

***N*-Diazeniumdiolate (NONOate) als Stickstoffmonoxid (NO)-Donatoren**

Dissertation

zur Erlangung des Doktorgrades der Naturwissenschaften im Fachbereich Chemie der
Universität Duisburg-Essen

(Dr. rer. nat.)

vorgelegt von

Andreas Mohr, geb. am 07. April 1971 in Gelsenkirchen

Essen, im Juni 2005

Vorsitzender:

Prof. Dr. R. Boese

Referent:

Prof. Dr. Dr. h.c. R. Sustmann

Korreferent:

Prof. Dr. H. Rehage

Tag der mündlichen Prüfung:

25. Juli 2005

Parveen und meiner Familie in Dankbarkeit

Die vorliegende Arbeit wurde im Zeitraum von Juni 2000 bis Mai 2005 im Institut für Organische Chemie der Universität Duisburg-Essen angefertigt. Mein besonderer Dank gilt

Herrn Prof. Dr. Dr. h.c. Reiner Sustmann

für das interessante Thema, die wertvollen Ratschläge und die stets gewährte Unterstützung während der Durchführung dieser Arbeit. Auch für die Möglichkeit der Präsentation meiner Ergebnisse sowie die finanzielle Unterstützung durch die Werdelmann-Stiftung möchte ich mich herzlich bedanken.

Herrn Prof. Dr. Heinz Rehage

vom Institut für Physikalische Chemie II der Universität Dortmund danke ich für die anregenden Diskussionen und die freundliche Übernahme des Korreferates.

Allen Mitgliedern des Institutes danke ich für die ausgezeichnete Arbeitsatmosphäre, die unermüdliche Diskussionsbereitschaft und gewährte Unterstützung während des Fortgangs dieser Arbeit. Mein Dank gilt Frau U. Nüchter und W. Sicking für die Hilfestellung bei der Aufnahme von UV/VIS- und Fluoreszenzspektren. Den Herren H. Bandmann und T. Schaller danke ich für die Erstellung zahlreicher NMR-Spektren, Herrn W. Karow für die Anfertigung von Massenspektren sowie Frau K. Brauer und Frau V. Hiltenkamp für die Durchführung der Elementaranalysen. Herrn Dr. H.-G. Korth danke ich für seine Diskussionsbereitschaft und die stets gewährte Hilfe.

Des Weiteren möchte ich mich bei meiner Familie bedanken, die durch ihre tatkräftige Unterstützung zum Gelingen dieser Arbeit beigetragen hat. Ganz besonderer Dank gilt meiner Frau Parveen Choudhary für die liebevolle Aufmerksamkeit und immerwährende Geduld und Hilfsbereitschaft.

„Hiermit bestätige ich, die vorliegende Arbeit nur mit den angegebenen Hilfsmitteln und ohne fremde Hilfe angefertigt zu haben.“

Inhaltsverzeichnis

1	Einleitung.....	1
1.1	Biologische Bedeutsamkeit von Stickstoffmonoxid.....	1
1.2	Chemische Quellen für Stickstoffmonoxid (NO).....	4
1.3	<i>N</i> -Diazeniumdiolate (NONOate) als Stickstoffmonoxid-Donatoren.....	9
1.4	Allgemeine Synthesestrategien für aliphatische Polyamine.....	13
1.5	Natürliche und Modellrezeptoren für Stickstoffmonoxid (NO).....	18
1.5.1	Die zytosolische Guanylat-Zyklase als natürlicher Rezeptor für NO.....	18
1.5.2	Glykosaminoglykane (GAGs) als Rezeptoren für NO.....	20
1.5.3	Natürliche Membranen als Rezeptoren für NO.....	23
2	Zielsetzung.....	30
3	Versuche zur Darstellung der hydrophilen Polyamine.....	33
3.1	Michael-Addition und Reduktion I: Versuche zur Darstellung von <i>N</i> ¹ -[2-(5-Amino-2-aminomethyl-pentylamino)-ethyl]-2-aminomethyl-pentan-1,5-diamin (1).....	33
3.2	Michael-Addition und Reduktion II: Versuche zur Darstellung von <i>N,N</i> -Bis-(3-amino-propyl)- <i>N'</i> -{3-[bis-(3-amino-propyl)-amino]-propyl}-propan-1,3-diamin (2).....	44
3.3	Alkylierung I: Darstellung von <i>N,N</i> -Bis-(2-amino-ethyl)- <i>N'</i> -(2-{2-[bis-(2-amino-ethyl)-amino]-ethylamino}-ethyl)-ethan-1,2-diamin (3).....	58
3.4	Zusammenfassung.....	67
3.5	Ausblick.....	69
4	Weitere Synthesen und Syntheseveruche zur Darstellung von hydrophilen Polyaminen und deren <i>N</i>-Diazeniumdiolaten.....	73
4.1	Zusammenfassung und Ausblick.....	85
5	Darstellung und Charakterisierung der hydrophoben Diamine 49a – 49c und deren <i>N</i>-Diazeniumdiolate (NONOate).....	87

5.1	Alkylierung: Darstellung von <i>N,N'</i> -Di- <i>n</i> -butyl- (49a), <i>N,N'</i> -Di- <i>n</i> -hexyl- (49b) und <i>N,N'</i> -Di- <i>n</i> -octylethylendiamin (49c).....	87
5.2	Umsetzung von <i>N,N'</i> -Dimethylethylendiamin (49d), <i>N,N'</i> -Di- <i>n</i> -butylethylendiamin (49a), <i>N,N'</i> -Di- <i>n</i> -hexylethylendiamin (49b) und <i>N,N'</i> -Di- <i>n</i> -octylethylendiamin (49c) mit Stickstoffmonoxid (NO).....	90
5.3	Charakterisierung der hydrophoben NONOate mittels Elementaranalyse, ¹⁵ N-NMR-, IR- und UV-Spektroskopie.....	91
6	UV-spektroskopische Untersuchungen.....	100
6.1	Charakterisierung von <i>N</i> -Diazeniumdiolaten (NONOaten) mittels UV-Spektroskopie.....	100
6.2	UV-spektroskopische Untersuchung der hydrophoben NONOate.....	104
6.3	Untersuchungen zum Zerfall der hydrophoben NONOate in Phosphatpufferlösung (pH 7.4).....	106
6.4	Kinetische und mechanistische Betrachtungen zum Zerfall von Diazeniumdiolaten in Abhängigkeit vom pH-Wert.....	112
6.4.1	Untersuchungen zum Zerfall von literaturbekannten <i>N</i> -Diazeniumdiolaten.....	112
6.4.2	Untersuchungen zum Zerfall von <i>N,N'</i> -Dimethylethylendiamin- und <i>N,N'</i> -Di- <i>n</i> -butylethylendiamin-NONOat in Abhängigkeit vom pH-Wert.....	117
6.5	Wechselwirkung von <i>N</i> -Diazeniumdiolaten mit dem anionischen Tensid Natriumdodecylsulfat (SDS) und deren Mizellen.....	123
6.5.1	Bildung, Struktur und Eigenschaften von Mizellkolloiden am Beispiel von Natriumdodecylsulfat (SDS).....	125
6.5.2	Fluoreszenzspektroskopische Bestimmung der kritischen Mizellbildungskonzentration <i>cmc</i> _{SDS} von Natriumdodecylsulfat (SDS) in Phosphatpufferlösung (pH 7.4).....	133
6.5.3	UV-spektroskopische Untersuchungen zur Wechselwirkung von <i>N,N'</i> -Dimethylethylendiamin- (4d), <i>N,N'</i> -Di- <i>n</i> -butylethylendiamin- (4a), <i>N,N'</i> -Di- <i>n</i> -hexylethylendiamin- (4b) und <i>N,N'</i> -Di- <i>n</i> -octylethylendiamin-NONOat (4c) mit dem anionischen Tensid Natriumdodecylsulfat (SDS).....	141
6.5.4	Mechanistische Betrachtungen zum Zerfall der hydrophoben <i>N</i> -Diazeniumdiolate unter mizellarer Katalyse.....	146
6.5.5	Literaturbekannte Untersuchungen zur Wechselwirkung von NONOaten mit dem anionischen Tensid Natriumdodecylsulfat.....	153

6.5.6	Diskussion.....	157
6.5.7	NONOate als Sonden zur Bestimmung der pH-Wert-Erniedrigung im Bereich der Sternregion von Natriumdodecylsulfat-(SDS)-Mizellen.....	159
7	Zusammenfassung der Ergebnisse.....	162
8	Experimenteller Teil.....	165
8.1	Allgemeine Arbeitstechnik.....	165
8.1.1	Analytik.....	165
8.1.2	Verwendete Chemikalien.....	166
8.1.3	Trocknen und Reinigen der Lösungsmittel.....	166
8.1.4	Arbeiten unter Schutzgas.....	167
8.1.5	Allgemeine Versuchsvorschrift zur Darstellung der <i>N</i> -Diazeniumdiolate (NONOate) im Hochdruckautoklaven.....	167
9	Darstellung und Charakterisierung der hydrophilen Amine und <i>N</i>-Diazeniumdiolate (NONOate).....	169
9.1	Versuche zur Synthese von <i>N</i> ¹ -[2-(5-Amino-2-aminomethyl-pentylamino)-ethyl]-2-aminomethyl-pentan-1,5-diamin (1).....	169
9.1.1	Darstellung von 2-Methylenglutarsäuredinitril (7).....	169
9.1.1.1	Darstellung von 2-Methylenglutarsäuredinitril (7) durch Umsetzung von Acrylnitril (6) mit Tributylphosphan und <i>tert</i> -Butanol.....	169
9.1.1.2	Darstellung von 2-Methylenglutarsäuredinitril (7) durch Umsetzung von Acrylnitril (6) mit 1,4-Diazabicyclo[2.2.2]octan (DABCO).....	170
9.1.2	Umsetzung von 2-Methylenglutarsäuredinitril (7) mit Ethylendiamin zu 4-Cyano-5-[2-(2,4-dicyano-butylamino)-ethylamino]-pentannitril (8).....	171
9.1.3	Versuche zur Hydrierung des Aminotetranitrils 8	173
9.1.3.1	Methode (a): Hydrierung mit Rhodium auf Aluminiumoxid Rh/Al₂O₃ (5 % Belegung) in ammoniakalischer Ethanollösung (10 proz.).....	174
9.1.3.2	Methode (b): Hydrierung mit Diisobutylaluminiumhydrid (DIBAH) in trockenem Tetrahydrofuran (THF).....	176
9.1.3.3	Methode (c): Hydrierung mit Lithiumaluminiumhydrid (LiAlH₄) in trockenem Tetrahydrofuran (THF).....	178

9.2	Darstellung von <i>N,N</i> -Bis-(3-amino-propyl)- <i>N'</i> -{3-[bis-(3-amino-propyl)-amino]-propyl}-propan-1,3-diamin (2).....	180
9.2.1	Umsetzung von 3,3'-Iminodipropionitril (9) mit <i>p</i> -Toluolsulfonsäurechlorid zu <i>N,N</i> -Bis-(2-cyano-ethyl)- <i>p</i> -toluolsulfonsäureamid (10).....	180
9.2.2	Reduktion von <i>N,N</i> -Bis-(2-cyano-ethyl)- <i>p</i> -toluolsulfonsäureamid (10) mit Natriumborhydrid zu <i>N,N</i> -Bis-(3-amino-propyl)- <i>p</i> -toluolsulfonsäureamid (11)....	182
9.2.3	Cyanethylierung: Umsetzung von <i>N,N</i> -Bis-(3-amino-propyl)- <i>p</i> -toluolsulfonsäureamid (11) mit Acrylnitril (6) zu <i>N,N</i> -Bis-{3-[bis-(2-cyano-ethyl)-amino]-propyl}- <i>p</i> -toluolsulfonsäureamid (12).....	186
9.2.4	Darstellung von <i>N,N</i> -Bis-(3-amino-propyl)- <i>N'</i> -{3-[bis-(3-amino-propyl)-amino]-propyl}-propan-1,3-diamin (2) durch Reduktion von 12 und anschließender Entfernung der Schutzgruppe.....	188
9.2.4.1	Versuche zur Reduktion von <i>N,N</i> -Bis-{3-[bis-(2-cyano-ethyl)-amino]-propyl}- <i>p</i> -toluolsulfonsäureamid (12) zur Tetraamin-Zwischenstufe.....	189
9.2.4.2	Versuche zur Entfernung der Schutzgruppe und Isolierung von <i>N,N</i> -Bis-(3-amino-propyl)- <i>N'</i> -{3-[bis-(3-amino-propyl)-amino]-propyl}-propan-1,3-diamin (2) als freie Base.....	192
9.2.5	Versuche zur Darstellung von <i>N,N</i> -Bis-(2-amino-ethyl)- <i>N'</i> -{3-[bis-(2-amino-ethyl)-amino]-propyl}-propan-1,3-diamin (22).....	194
9.2.5.1	Umsetzung von 2-Chlorethylaminhydrochlorid (50) mit <i>p</i> -Toluolsulfonsäure zu <i>N</i> -(<i>p</i> -toluolsulfonyl)-2-chlorethylamin (51).....	194
9.2.5.2	Umsetzung von <i>N</i> -(<i>p</i> -toluolsulfonyl)-2-chlorethylamin (51) zu <i>p</i> -Toluolsulfonylaziridin (18).....	195
9.2.5.3	Versuche zur Additino von <i>p</i> -Toluolsulfonylaziridin (18) an <i>N,N</i> -Bis-(3-amino-propyl)- <i>p</i> -toluolsulfonsäureamid (11).....	197
9.2.5.4	Entfernung der Tosylatgruppen (Detosylierung) durch Hydrolyse mit Bromwasserstoff und Eisessig Isolierung und Charakterisierung der Hydrolyseprodukte nach Ionenchromatographischer Trennung.....	198
9.3	Synthese von <i>N,N</i> -Bis-(2-amino-ethyl)- <i>N'</i> -(2-{2-[bis-(2-amino-ethyl)-amino]-ethylamino}-ethyl)-ethan-1,2-diamin (3).....	201
9.3.1	Reaktion von Tris-(2-aminoethyl)-amin (13) mit 1,2-Dibromethan.....	201

9.3.2	Isolierung und Charakterisierung von <i>N,N</i> -Bis-(2-amino-ethyl)- <i>N'</i> - <i>N'</i> -(2-{2-[bis-(2-amino-ethyl)-amino]-ethylamino}-ethyl)-ethan-1,2-diamin (3) als Hydrochlorid Salz.....	203
9.4	Darstellung von Cyanesigsäurechlorid (29) und <i>N</i> -Trimethyl-2-cyanacetamid (30).....	207
9.4.1	Synthese von Cyanessigsäurechlorid (29).....	207
9.4.2	Versuche zur Synthese von <i>N</i> -Trimethylsilyl-2-cyanacetamid (30).....	208
9.5	Darstellung von Triazacyclononan (26).....	211
9.5.1	Tosylierung I: Synthese von Diethylentriamin- <i>N,N',N''</i> -tritosylat (40).....	211
9.5.2	Tosylierung II: Synthese von Ethylenglykolditosylat (43).....	212
9.5.3	Synthese von Dinatriumdiethylentriamin- <i>N,N',N''</i> -tritosylat (41).....	213
9.5.4	Zyklisierung: Synthese von 1,4,7-Triazacyclononan- <i>N,N',N''</i> -tritosylat (44).....	214
9.5.5	Detosylierung: Synthese von 1,4,7-Triazacyclononantrihydrobromid (45).....	216
9.5.6	Synthese von Triazacyclononan (26).....	217
9.5.7	Umsetzung von Triazacyclononan (26) mit Stickstoffmonoxid (NO).....	218
10	Darstellung und Charakterisierung der hydrophoben Amine und <i>N</i>-Diazeniumdiolate (NONOate).....	220
10.1	Darstellung von <i>N,N</i> -Di- <i>n</i> -butyl- (49a), <i>N,N'</i> -Di- <i>n</i> -hexyl- (49b), und <i>N,N'</i> -Di- <i>n</i> -octylethyldiamin (49c).....	220
10.2	Umsetzung von <i>N,N'</i> -Dimethylethyldiamin (49d), <i>N,N'</i> -Di- <i>n</i> -butylethyldiamin (49a), <i>N,N'</i> -Di- <i>n</i> -hexylethyldiamin (49b), <i>N,N'</i> -Di- <i>n</i> -octylethyldiamin (49c) mit Stickstoffmonoxid (NO).....	224
11	Spektroskopische Untersuchungen	233
11.1	¹ H-NMR-, ¹³ C-NMR- und ¹⁵ N-NMR-spektroskopische Untersuchungen der <i>N</i> -Diazeniumdiolate (NONOate).....	233
11.2	UV-spektroskopische Untersuchungen.....	233
11.3	Kinetische Untersuchungen.....	234
11.3.1	Zerfall der hydrophilen und hydrophoben NONOate in Phosphatpufferlösung (pH 7.4).....	234
11.3.2	Zerfall von <i>N,N'</i> -Dimethylethyldiamin- und <i>N,N'</i> -Di- <i>n</i> -butylethyldiamin-NONOat in Abhängigkeit vom pH-Wert.....	235

11.3.3	Zerfall der hydrophoben NONOate in Phosphatpufferlösung (pH 7.4) in Gegenwart von Natriumdodecylsulfat (SDS).....	236
11.3.4	Fluoreszenzspektroskopische Bestimmung der kritischen Mizellbildungskon- zentration cmc_{SDS} von Natriumdodecylsulfat in Phosphatpufferlösung (pH 7.4).....	238
12	Literaturverzeichnis	240

Abkürzungsverzeichnis

Abb.	Abbildung
<i>al.</i>	andere (lat.: <i>alii</i>)
BN	Butylnitrit
Butyl-NONOat	(Z)-1-{N-Butyl-N-[2-(N-butylammonium)ethyl]amino} diazan-1-ium-1,2-diolat
<i>cmc</i>	kritische Mizellbildungskonzentration
cyclo-GMP	zyklisches Guanosin-3',5'-monophosphat
Cyclam	1,4,8,12-Tetraazacyclotetradecan
Cyclen	1,4,7,10-Tetraazacyclododecan
CysNO	Nitrosocystein
DABCO	1,4-Diazabicyclo[2.2.2]octan
DEA/NO	(Z)-1-(N,N-Diethylamino)diazan-1-ium-1,2-diolat Natriumsalz
DETA/NO	(Z)-1-[N-(2-Aminoethyl)-N-(2-ammoniumethyl)amino] diazan-1-ium-1,2-diolat
DIBAH	Diisobutylaluminiumhydrid
DMF	Dimethylformamid
DMSO	Dimethylsulfoxid
DPTA/NO	(Z)-1-[N-(3-Aminopropyl)-N-(3-ammoniumpropyl)amino] diazan-1-ium-1,2-diolat
EDTA	Ethylendiamintetraessigsäure
EDRF	<i>endothelium derived relaxing factor</i>
ESI	Elektrospray Ionisation
Et	Ethyl
EZM	Extrazelluläre Matrix
FAB	Fast Atom Bombardement
GAGs	Glykosaminoglykane
GTN	Nitroglycerin
GSNO	S-Nitrosoglutathion
Hexyl-NONOat	(Z)-1-{N-Hexyl-N-[2-(N-hexylammonium)ethyl]amino} diazan-1-ium-1,2-diolat
IAMN	Isoamylnitrit
ISDN	Isosorbiddinitrat

k	Geschwindigkeitskonstante
K_s	Dissoziationskonstante einer Säure (Säurekonstante)
MAHAMA/NO	(Z)-1-{N-Methyl-N-[6-(N-methylammonium)hexyl]amino} diazen-1-ium-1,2-diolat
Me	Methyl
Methyl-NONOat	(Z)-1-{N-Methyl-N-[2-(N-methylammonium)ethyl]amino} diazen-1-ium-1,2-diolat
MS	Massenspektrometrie
NADPH	Nicotinamid-Adenindinucleotidphosphat
NMR	<i>nuclear magnetic resonance</i> (Kernresonanz)
NO	Stickstoffmonoxid (nitric oxide)
NONOate	N-Diazeniumdiolate
NOS	Stickstoffmonoxid-Synthase (nitric oxide synthase)
Octyl-NONOat	(Z)-1-{N-Octyl-N-[2-(N-octylammonium)ethyl]amino} diazen-1-ium-1,2-diolat
PAPA/NO	(Z)-1-[N-(3-Ammoniumpropyl)-N-(n-propyl)amino] diazen-1-ium-1,2-diolat
PC	Phosphatidylcholin
PE	Phosphatidylethanolamin
PG	Phosphatidylglycerol
pH	Negativer dekadischer Logarithmus der Wasserstoffionen-Konzentration
pK_s	Negativer dekadischer Logarithmus der Dissoziationskonstanten einer Säure (Säurekonstanten)
PI	Phosphatidylinositol
PIPERAZI/NO	(Z)-1-(Piperazin-1-yl) diazen-1-ium-1,2-diolat Natriumsalz
PG	Phosphatidylserin
ppm	<i>parts per million</i> (Anteil pro 1.000.000)
Pr	Propyl
ⁱ Pr	<i>iso</i> -Propyl
Rh/Al ₂ O ₃	Rhodium auf Aluminiumoxid
RT	Raumtemperatur
SDS	Natriumdodecylsulfat (Sodiumdodecylsulfate)
SIN-1	3-Morpholino-sydnonimin-Hydrochlorid

SNAP	S-Nitroso- <i>N</i> -acetylpenicillamin
SNP	Natriumnitroprussid, Natriumpentacyanonitrosylferrat (III)
SPER/NO	(<i>Z</i>)-1-{ <i>N</i> -[3-Aminopropyl]- <i>N</i> -[4-(3-aminopropylammonium)butyl]-amino}diazene-1,2-diolat
THF	Tetrahydrofuran
Ts	Tosylat
UV	ultraviolett
ZnCu-SOD	Zink-Kupfer-Superoxiddismutase

1 Einleitung

Stickstoffmonoxid (NO) kommt in der biomedizinischen Forschung seit Beginn der 1990er Jahre eine besondere Bedeutung zu. Für den lebenden Säugetierorganismus ist dessen physiologische und pathophysiologische Wirksamkeit außergewöhnlich vielfältig und wichtig^[1]. So streben zahlreiche aktuelle Forschungen die Synthese von Verbindungen an, die gezielt unter physiologischen Bedingungen NO freisetzen, um so möglicherweise einen Einfluss auf die von NO bewirkten Prozesse im Körper ausüben zu können. *N*-Diazeniumdiolate (NONOate) sind eine Klasse von Verbindungen, die unter physiologischen Bedingungen spontan Stickstoffmonoxid freisetzen. Ihre biologische Wirksamkeit konnte sowohl *in vitro* als auch *in vivo* nachgewiesen werden.^[2] Im Hinblick auf die pharmakologische Wirksamkeit ist es jedoch wünschenswert, wenn die Freisetzung nicht spontan verläuft, sondern durch gezielte Wechselwirkung mit natürlichen oder Modellrezeptoren die Freisetzung von NO selektiv erfolgt. Dann besteht die Hoffnung, dass NONOate in naher Zukunft als Medikamente eingesetzt werden können.

1.1 Biologische Bedeutsamkeit von Stickstoffmonoxid

Die biologische Bedeutsamkeit von Stickstoffmonoxid für den lebenden Säugetierorganismus wurde erstmals in den 1980er Jahren erkannt, als IGNARRO und MONCADA zeigen konnten, dass NO und der von Furchgott entdeckte „endothelium derived relaxing factor“ (EDRF) identisch sind.^[1,3] Als EDRF bezeichnete FURCHGOTT den Botenstoff, der aus der inneren Zellschicht (Endothel) der Blutgefäße freigesetzt wird und für die Entspannung der Gefäßmuskulatur verantwortlich ist.^[4] Stickstoffmonoxid blieb bis dahin unentdeckt, da die Lebensdauer des NO-Radikals unter physiologischen Bedingungen nur wenige Sekunden beträgt. Seine Wirkung ist jedoch sehr vielfältig, da es leicht durch Zellmembranen diffundieren kann und im Organismus mit einer Vielzahl von Molekülen reagiert.^[5-7] Als endogenes Signalmolekül übt Stickstoffmonoxid zum Beispiel einen Einfluss auf die Blutdruckregulation aus. NO wird in den Endothelzellen der Blutgefäße gebildet. Von dort aus diffundiert es in die angrenzenden Glattmuskelzellen, um dann das Enzym Guanylat-Zyklase (sGC) zu aktivieren. Die Aktivierung führt ihrerseits über einen erhöhten cyclo-GMP-(cyclo-Guoninmonophosphat)-Spiegel zu einem Calcium-Ausstoß und damit zu einer Gefäßerweiterung (Vasodilatation). Die Gefäßdilatation führt schließlich zu einer Senkung des Blutdrucks. Ähnlich verhält es sich mit der hemmenden Wirkung von NO

auf die Blutplättchen-Aggregation. Nachdem NO in das Blut hineindiffundiert ist, aktiviert es die Guanylat-Zyklase in den Thrombocyten, und ein erhöhter cyclo-GMP-(cyclo-Guanosinmonophosphat)-Spiegel verhindert schließlich die gegenseitige Aggregation der Blutplättchen. Beiden Prozessen ist gemeinsam, dass sie über cyclo-GMP vermittelt werden. In seiner Eigenschaft als Neurotransmitter ist NO sowohl für das zentrale als auch für das vegetative Nervensystem von großer Bedeutung. Zur Steuerung glattemuskulärer Organe wie Speiseröhre, Magen, Darm und Lunge sind sogenannte nicht-adrenerge und nicht-cholinerge (NANC)-Nervenfasern beteiligt, die mit dem zentralen Nervensystem verbunden sind und wie im Falle der Endothelzellen NO produzieren. Man vermutet, dass Stickstoffmonoxid im zentralen Nervensystem auch am Gedächtnisprozess beteiligt ist. Zur körpereigenen Abwehr produzieren Makrophagen NO in hohen Konzentrationen, so dass aufgrund der zytotoxischen Wirkung beispielsweise Bakterien und Tumorzellen vernichtet werden. Zu den pathophysiologischen Wirkungen zählen Zellschädigungen bei chronischen Entzündungen wie der Apoptose und dem septischen Schock. Stickstoffmonoxid soll auch bei Krankheiten wie Alzheimer und Parkinson eine Rolle spielen. Bei Autoimmunerkrankungen wie Diabetes mellitus und Multiple Sklerose wird ebenfalls angenommen, dass NO einen Einfluss ausübt.^[8-10] Aktuelle Publikationen aus dem Jahre 2003 bekräftigen das zunehmende Interesse an neuwertigen Biomaterialien. Verschiedene Sol-Gel-Systeme und hydrophobe Polymerfilme wurden synthetisiert, und so präpariert, dass sie unter physiologischen Bedingungen NO freisetzen. Der Effekt der vermehrten Blutplättchen-Aggregation oder die Vermehrung von Bakterien auf Biomaterialien könnte dann auf diesem Wege womöglich vermindert bzw. unterdrückt werden.^[11,12]

Im lebenden Organismus erfolgt die Synthese von NO enzymatisch durch sogenannte NO-Synthasen. Dabei wird die Aminosäure L-Arginin in einer zweistufigen Reaktion zu L-Citrullin umgewandelt. Für die Reaktion werden molekularer Sauerstoff und Nicotinamid-Adenindinucleotidphosphat (NADPH) verbraucht. Die Oxidation erfolgt am Guanidin-Stickstoff in zwei Schritten. Einer Zweielektronenoxidation unter Bildung von *N*^ω-hydroxy-L-Arginin folgt eine weitere Oxidation unter Abspaltung von NO und der Bildung von L-Citrullin. Insgesamt handelt es sich dabei um eine Verkürzung des Harnstoffzyklus.^[6,13]

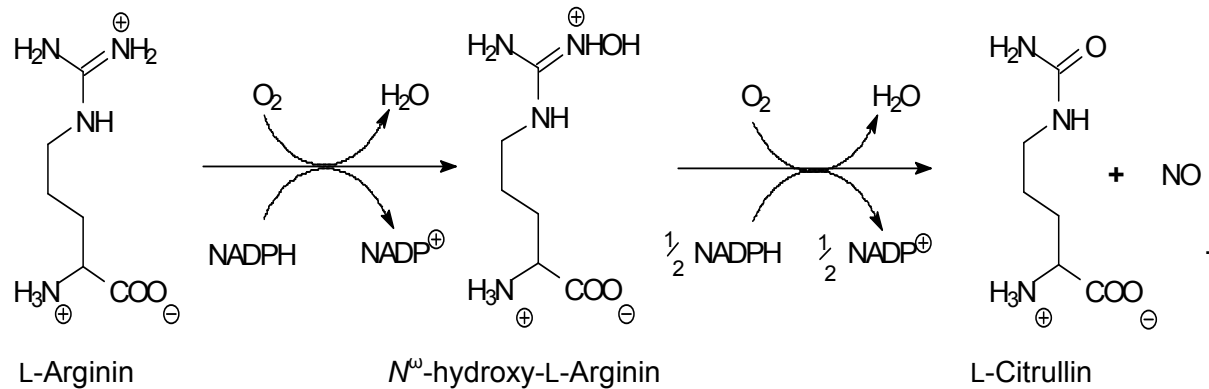


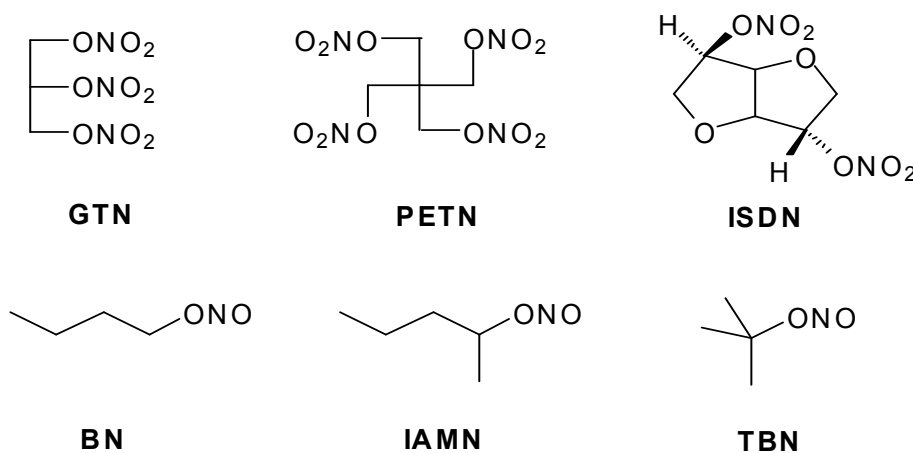
Abb. 1: Biosynthese von Stickstoffmonoxid im lebenden Säugetierorganismus. Die Synthese erfolgt in einer zweistufigen Oxidationsreaktion enzymatisch durch NO-Synthasen.^[6]

Je nach Herkunft (Zelltyp) und Wirkung unterscheidet man drei Isoformen von NO-Synthasen: die induzierbare (iNOS), die neuronal konstitutive (nNOS) und die endothelial konstitutive (eNOS) Form. Alle drei besitzen ähnliche Bildungsgeschwindigkeiten von Stickstoffmonoxid (spez. Aktivität von $0.6 - 1.3 \text{ nmol} \cdot \text{min}^{-1}$ pro mg Enzym bei 37°C). Man fasst die neuronal und endothelial konstitutiven NOS auch mit dem Begriff „constitutive NOS“ (cNOS) zusammen. Ihre Aktivität wird ausschließlich über Calcium/Calmodulin (Calcium gebunden durch Calmodulin) gesteuert. Im Gegensatz dazu ist die Aktivität der induzierbaren NOS calciumunabhängig, ihre Stimulierung erfolgt durch sogenannte Cytokine wie Interferone und Interleukine oder durch Endotoxine wie Lipopolysaccharide (LPS). Da sie zuerst in den Makrophagen gefunden wurde, bezeichnet man die iNOS häufig auch als macNOS. Die konstitutiven NO-Synthasen (cNOS) findet man in verschiedenen Zellgruppierungen. So kommt die nNOS vorwiegend in den neuronalen Zellen, den Skelettmuskelzellen, den Lungenepithelzellen und den Blutplättchen vor, während die eNOS vorwiegend in den Endothelzellen zu finden ist. Außer in den Makrophagen wurde die iNOS auch in Kupferzellen, Hepatocyten, Endothelzellen und Glattmuskelzellen gefunden. Man unterscheidet drei Isoformen der NO-Synthasen aufgrund der Regulationsmechanismen sowie aufgrund der primären Aminosäuresequenz. Allen Isoformen ist aber gemeinsam, dass sie in einer Oxidationsreaktion die Aminosäure L-Arginin zu L-Citrullin und Stickstoffmonoxid umsetzen. Bezüglich der Protein- und DNA-Sequenzen zeigen NO-Synthasen Ähnlichkeiten zu den Cytochrom P_{450} -Enzymen.^[14-17]

1.2 Chemische Quellen für Stickstoffmonoxid (NO)

Stickstoffmonoxid ist an einer Vielzahl von Prozessen im Organismus beteiligt. Seine Funktionen im Körper sind umfangreich und sehr komplex. Ebenso zahlreich sind auch die Verbindungen, die als Quelle für Stickstoffmonoxid in Frage kommen. Die Freisetzung von NO erfolgt dabei unter verschiedenen Voraussetzungen, je nachdem, welcher NO-Donor betrachtet wird. Die Freisetzung von NO kann zum Beispiel durch Oxidation oder Reduktion erfolgen. Einige Verbindungen generieren NO erst nach enzymatischer Katalyse oder durch Reaktion mit Thiolen, während andere Verbindungen NO bereits spontan freisetzen. Eine Vielzahl von NO-Donatoren ist daher bekannt. Im Hinblick auf die Art der NO-Freisetzung sowie deren biologische Wirksamkeit sind alle Verbindungen intensiv untersucht worden.^[2,18,19]

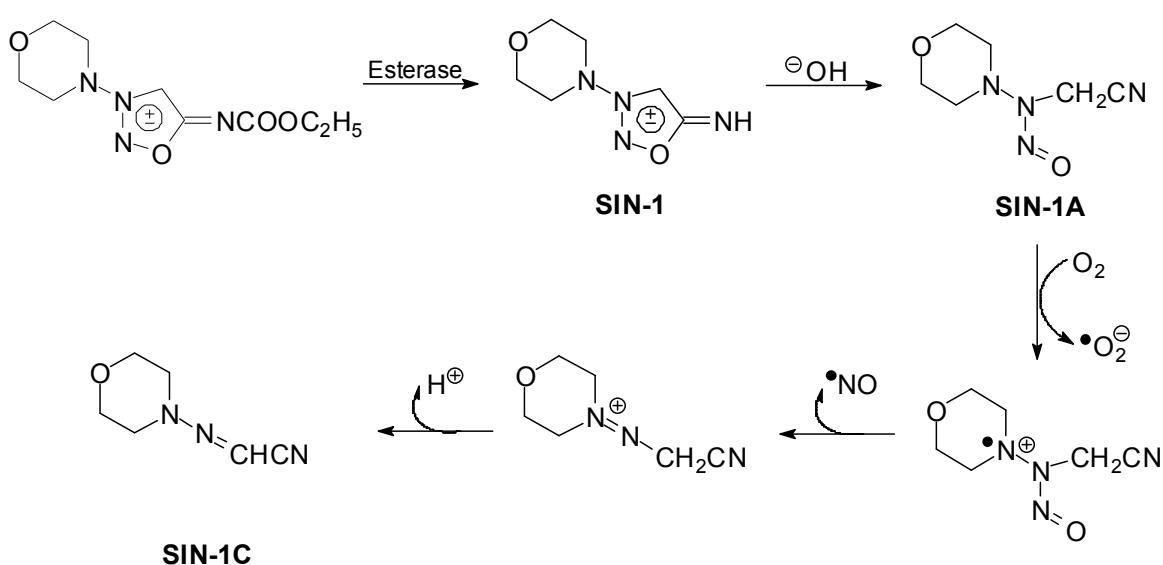
Organische Nitrate und Nitrite zählen zu den Donatoren, die NO im Stoffwechsel auf reduktivem Wege freisetzen. Unter den organischen Nitraten war Nitroglycerin der erste Wirkstoff, der bei kardiovaskulären Erkrankungen erfolgreich zur Anwendung kam. Einige von ihnen haben sich als wirksame Arzneimittel erwiesen. Neben Nitroglycerin (**GTN**) sind das zum Beispiel Pentaerythryltetranitrat (**PETN**) und Isosorbiddinitrat (**ISDN**). Unter den Nitritverbindungen haben sich beispielsweise Butylnitrit (**BN**), *tert*-Butylnitrit (**TBN**) oder Isoamylnitrit (**IAMN**) etabliert. Deren gefäßerweiternde Wirkung ist seit vielen Jahren bekannt, und seit langer Zeit werden diese auch als Medikamente eingesetzt.



Die Gabe von Nitraten weist gegenüber den Nitriten einen besonderen Nachteil auf, das heißt, bei einer Langzeittherapie mit organischen Nitraten beobachtet man bezüglich der Wirksamkeit eine ausgeprägte Toleranz.^[18,20,21]

Natriumpentacyanonitrosylferrat (Natriumnitroprussid, **SNP**) gehört ebenfalls zu den Vertretern, die NO auf reduktivem Wege generieren. Als Ligand ist Stickstoffmonoxid in der Lage, sehr starke Übergangsmetallkomplexe zu bilden, und von biologischem Interesse sind vor allem die Eisenkomplexe. Die Komplexbildungskonstanten liegen im Vergleich zu den teilweise sehr starken Carbonyl- und Sauerstoffkomplexen oftmals höher. Bereits vor 70 Jahren wurde **SNP** klinisch erfolgreich bei der Blutdruckregulation eingesetzt. Der Komplex selbst ($\text{Na}_2[\text{Fe}(\text{CN})_5\text{NO}] \cdot 2\text{H}_2\text{O}$) ist unter Normalbedingungen kristallin und kann unter Ausschluss von Feuchtigkeit und Licht auch über Jahre hinweg problemlos gelagert werden. Auch wenn die mechanistischen Details der NO-Freisetzung noch nicht vollständig verstanden werden, so geht man davon aus, dass die Bildung von NO durch die Einwirkung von Licht oder durch eine Einelktronenreduktion erfolgt. Sicher ist aber, dass die Freisetzung von NO in Gegenwart von Thiolen rascher erfolgt.^[2,18,22]

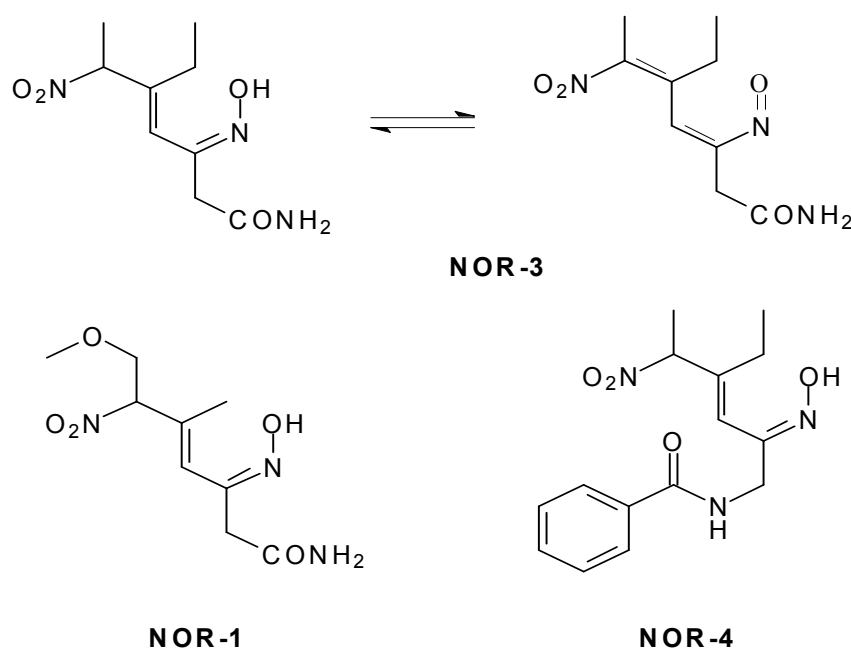
Zu den bekannten Donatoren, die NO nach Oxidation freisetzen, gehört das sogenannte **SIN-1** (3-Morpholinosydnonimin), ein Vertreter aus der Klasse der Sydnonimine. Hierbei handelt es sich um zwitterionische Heterocyclen mit einer Vielzahl an biologischen Funktionen. Zum Beispiel hat sich **SIN-1** seit langem zur Behandlung von angina pectoris bewährt, so dass es in zahlreichen europäischen Ländern auch klinisch angewendet wird.



Bei den *N*-Acyl-Derivaten der Sydnonimine handelt es sich um stabile Feststoffe, sofern diese unter Ausschluss von Licht aufbewahrt werden. Gleiches gilt für Lösungen in

Dimethylsulfoxid (DMSO) oder Dimethylformamid (DMF). Durch Esterasen können die Derivate in das **SIN-1** überführt werden. **SIN-1** ist sehr gut wasserlöslich und in saurer Lösung stabil. Die Freisetzung von NO erfolgt dem obigen Schema folgend über mehrere Stufen: unter physiologischen Bedingungen sowie in alkalischer Lösung erfolgt zunächst eine Hydrolyse zum **SIN-1A**. Bereits Spuren von Sauerstoff führen zu einem Radikalkation, welches nach Abgabe von NO und anschließender Deprotonierung in das **SIN-1C** übergeht. Die Freisetzung von NO erfordert die Anwesenheit von Sauerstoff. In Abwesenheit von Sauerstoff und unter physiologischen Bedingungen (pH = 7.4) sind Lösungen von **SIN-1A** dagegen stabil.^[2,18,23]

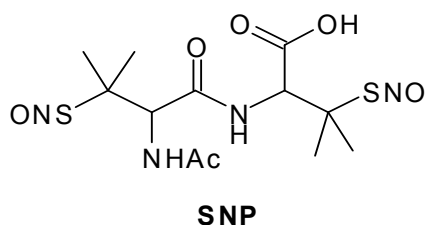
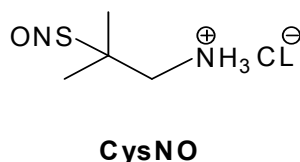
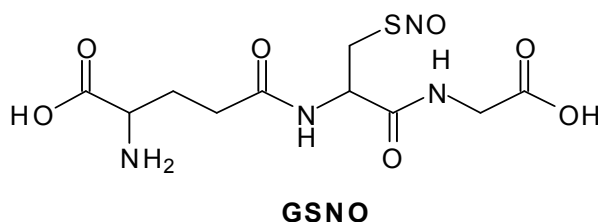
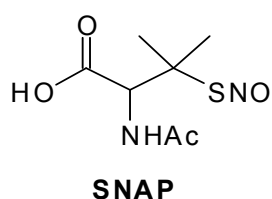
Alkyl- und Aryloxime ($R_2C=NOH$) stellen eine weitere Verbindungsklasse dar, die unter oxidativen Bedingungen NO freisetzen. Gegenstand biologischer Studien sind vor allem die bekannten Vertreter **NOR-1**, **NOR-3** und **NOR-4**. Dessen vasodilatierende Aktivität ist nachgewiesen und kann auf die Freisetzung von NO zurückgeführt werden.



In seiner Eigenschaft als NO-Donator ist das **NOR-3** intensiv untersucht worden. Bei tiefen Temperaturen (-20°C) ist der Feststoff stabil. In wässriger Lösung (pH=7.4) jedoch kommt es spontan zur Freisetzung von Stickstoffmonoxid. Das Oxim geht dabei in das entsprechende Keton über. Der Zerfall des **NOR-3** erfolgt unter physiologischen Bedingungen mit einer Halbwertszeit von 45 Minuten. Durch Modifikationen in der Struktur kann die Halbwertszeit beeinflusst werden. Im Vergleich zum **NOR-3** ist die

Halbwertszeit von **NOR-4** nur etwa halb so groß, während **NOR-1** bereits nach wenigen Minuten vollständig zerfallen ist. Der Zerfall der Oxime ist abhängig vom pH-Wert. Als Stammlösungen werden daher saure Lösungen mit einem pH-Wert < 4 oder Lösungen in DMSO verwendet.^[2,18, 24]

Die Kenntnis, dass Stickstoffmonoxid an zahlreichen physiologischen und pathophysiologischen Prozessen im Organismus beteiligt ist, führte in den letzten Jahren dazu, dass das Interesse an den S-Nitrosothiolen (Thionitriten) als NO-Donatoren stetig zunahm.^[25-29] So spielen diese als Intermediate auch bei anderen NO-generierenden Substanzen wie den Nitraten, den Nitriten oder dem **SIN-1** eine wichtige Rolle.^[18] Nitrosothiole sind potentielle Vasodilatoren. Deren hemmende Wirkung auf die Blutplättchenaggregation ist ebenfalls seit langem bekannt. Zum Beispiel übernehmen S-Nitrosothiole beim oxidativen Stress eine Schutzfunktion, indem sie durch gezielte Freisetzung von Stickstoffmonoxid sogenannte *freie Radikale* abfangen (vgl. Abbruchreaktion bei Radikalkettenreaktionen). S-Nitrosothiole wirken so dem oxidativen Stress entgegen.^[22] Bei ihrer Zersetzung kann die Spaltung der S-NO-Bindung sowohl homolytisch als auch heterolytisch erfolgen. Während die Heterolyse entweder NO^+ und RS^- oder NO^- und RS^+ liefert, kommt es bei der Homolyse zur Bildung eines Thiyl- und eines NO-Radikals. Ausgelöst wird die Homolyse durch Wärme oder UV-Licht, durch die Katalyse bestimmter Metallionen wie Cu(I) oder Fe(II), durch Superoxid oder Ascorbat sowie durch einige Selen-Verbindungen. S-Nitrosothiole sind intensiv gefärbte Flüssigkeiten oder Feststoffe, die zum Beispiel durch Nitrosierung von primären und sekundären (rosa oder rot) oder tertiären (grün) Thiolen erhalten werden. Die tertiären Verbindungen sind im Vergleich zu den primären und sekundären stabiler und leichter handhabbar. Die meisten Produkte sind jedoch instabil, und bereits bei Raumtemperatur zersetzen sich diese zum entsprechenden Disulfid und Stickstoffmonoxid.^[2] Typische Vertreter aus der Verbindungsklasse der S-Nitrosothiole sind das S-Nitroso-N-Acetylpenicillamin (**SNAP**), S-Nitrosoglutathion (**GSNO**), S-Nitrosopenicillamin (**SNP**) und S-Nitrosocystein (**CysNO**).



Bei der thermischen Zersetzung geht man von einem Zweistufen-Mechanismus aus. Der abschließenden Dimersierung zum Disulfid geht die Bildung der entsprechenden Thiylradikale und NO voraus. In Abhängigkeit von ihrer Struktur beobachtet man unterschiedliche Zersetzungsgeschwindigkeiten. So haben sich tertiäre Verbindungen wie **SNAP** im Vergleich zu den primären Alkyl-S-nitrosothiolen und den Aryl-S-nitrosothiolen als besonders stabil erwiesen. *Ab initio* Rechnungen deuten darauf hin, dass die Dimersierung der Thiylradikale zum Disulfid bei sterischer Hinderung besonders erschwert wird.^[18] Zudem soll die Stabilität der Thiole auch von weiteren Substituenten im Molekül stark abhängig sein. S-Nitrosothiole zeigen charakteristische Absorptionen bei 335 und 545 nm. Besonders durch Bestrahlung mit UV-Licht kommt es zur Zersetzung, und es werden die gleichen Produkte, nämlich Disulfid und NO erhalten. Aufgrund der Lichtempfindlichkeit werden stets sauerstofffreie Stammlösungen (Citrat/HCl-Puffer, pH 2.0 oder 0.5 - 1.0 M HCl-Lösung) verwendet. Unter Eiskühlung und Ausschluss von Licht sind diese dann wenige Stunden stabil. Die Zersetzung der S-Nitrosothiole wird durch Metallionen wie Cu(I), Fe(II), Hg(II) und Ag(I) katalysiert.^[30] Bei Untersuchungen mit S-Nitrosothiolen darf also die Gegenwart dieser Metallionen nicht vernachlässigt werden. Durch Zugabe von Komplexbildnern wie EDTA kann diese Störung jedoch ausgeschlossen werden, und die katalytische Zersetzung spielt so keine Rolle mehr. Das besondere Interesse gilt der Zersetzung durch Kupferionen, da der Kupfergehalt eines ca. 75 kg schweren Menschen bei immerhin 0.1 g liegt. Vorgeschlagen wird ein mehrstufiger Zerfallsmechanismus, bei dem Cu(II) durch Thiolationen zu Cu(I) reduziert wird, das schließlich die Zersetzung der S-Nitrosothiole katalysiert. Gleiches hat man auch bei kupferhaltigen Enzymen wie der Zink-Kupfer-Superoxiddismutase (ZnCu-SOD) beobachtet. Die Reaktion mit Ascorbinsäure verläuft

über zwei Wege, je nachdem, in welcher Konzentration das Reduktionsmittel vorliegt. In beiden Fällen jedoch wird NO freigesetzt. Bei geringer Konzentration (ca. 0.1 mM) überwiegt die Eigenschaft als Reduktionsmittel, indem Cu(II) zu Cu(I) reduziert wird. Dabei fällt neben Stickstoffmonoxid das entsprechende Disulfid als Hauptprodukt an. Bei hoher Konzentration (ca. 1-10 mM) fungiert Ascorbat als Nucleophil. Als Hauptprodukte werden die entsprechende Thiole erhalten. Das Interesse an den S-Nitrosothiolen ist nach wie vor ungebremst. So wurden in den letzten drei Jahren zahlreiche, neuartige Verbindungen synthetisiert. Von WANG, BUTLER, AL-SA'DONI und MUTUS sowie deren Mitarbeitern stammen zum Beispiel die Zucker-**SNAP**-Verbindungen, verschiedene Abkömmlinge der 1-Thiozucker, zahlreiche S-Nitrosopeptide sowie verschiedene Fluorophore.^[2,18,25-29]

1.3 *N*-Diazoniumdiolate (NONOate) als Stickstoffmonoxid-Donatoren

Seit nunmehr 40 Jahren sind *N*-Diazoniumdiolate (NONOate) bekannt.^[2,19,30,31] Sie werden durch nukleophile Addition von primären und sekundären Aminen an Stickstoffmonoxid erhalten, wobei NO als Elektronenpaar-Akzeptor fungiert. NONOate werden in der Regel unter Druck in einem Autoklaven dargestellt. Das in einem organischen Lösungsmittel (Acetonitril, Tetrahydrofuran oder Diethylether) gelöste Amin wird bei Raumtemperatur etwa 1-3 Tage unter Druck mit Stickstoffmonoxid umgesetzt. Die NONOate fallen dabei als farblose feste Stoffe aus und können nach der Umsetzung direkt in fein kristalliner und luftstabiler Form erhalten werden. Nach einer älteren Variante wird NO bei -78 °C unter Normaldruck dem reinen oder dem in Diethylether gelösten Amin zugeführt. Auch hier fallen die NONOate als farblose und luftstabile Feststoffe aus, die nach der Umsetzung leicht isoliert werden können. Heutzutage werden NONOate bevorzugt nach der Hochdruckmethode gewonnen, da im Vergleich zur Normaldruckvariante wesentlich höhere Ausbeuten erhalten werden. In beiden Fällen erfolgt die Synthese ohne großen apparativen Aufwand. NONOate sind im Allgemeinen über einen Zeitraum von wenigen Stunden luftstabil, zeigen aber nach Tagen unter Aufbewahrung bei Raumtemperatur deutliche Zersetzungerscheinungen, so dass sie unter Schutzgas bei -18 °C gelagert werden müssen. Unter diesen Bedingungen sind NONOate auch nach Monaten noch stabil. Zu Beginn der 1960iger Jahre untersuchten DRAGO et al. als Erste die Reaktion von Stickstoffmonoxid mit verschiedenen primären und sekundären Aminen.^[30,31] Nach der Normaldruckvariante erhielten sie zahlreiche NONOate in Form ihrer Ammoniumsalze mit der allgemeinen

Zusammensetzung $\text{RNH}_3^+\text{RNHN}_2\text{O}_2^-$ (primäre Amine) und $\text{R}_2\text{NH}_2^+\text{R}_2\text{NN}_2\text{O}_2^-$ (sekundäre Amine). Ausgehend von den Ammoniumsalzen erhielten sie durch Umsetzung mit Natriummethanolat auch die entsprechenden Natriumsalze. Zu Beginn der 1990er Jahre wurden auch Polyamine eingehend untersucht. Die Synthese von Spermin-NONOat (**SPER/NO**) gelang KEEFER et al. zum ersten Mal 1991, darauf folgten von HRABIE et al. weitere NONOate mit der allgemeinen Zusammensetzung $\text{RN}[\text{N}(\text{O})\text{NO}]^-$ $(\text{CH}_2)_x\text{NH}_2^+\text{R}'$.^[32-34] Die untere Abbildung zeigt typische Vertreter.

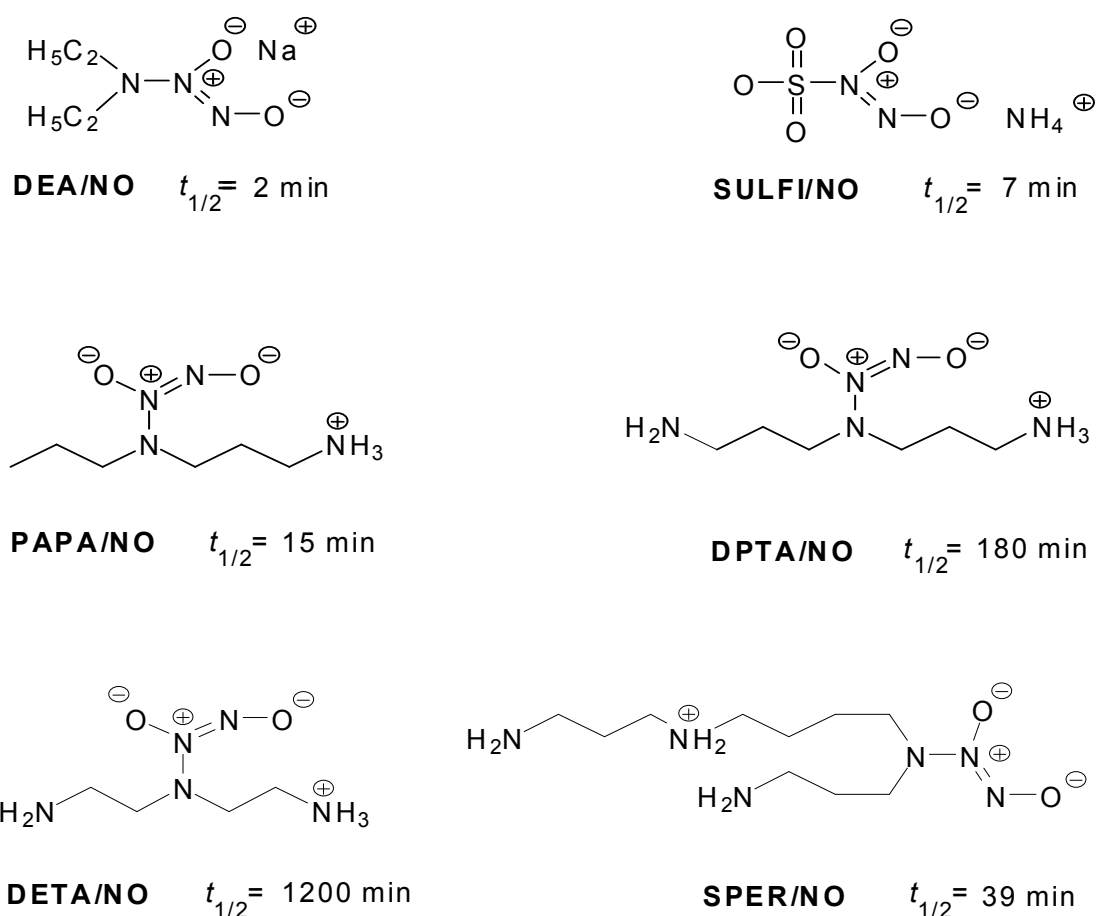
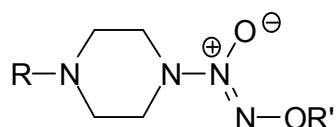


Abb. 2: Verschiedene *N*-Diazeniumdiolate (NONOate) und die zugehörigen Halbwertszeiten für den Zerfall unter physiologischen Bedingungen (pH 7.4, 37 °C).^[32-34]

Anders als bei den primären und sekundären Aminen erfolgt im Falle der Polyamine der Ladungsausgleich nicht intermolekular, sondern intramolekular in Form eines Zwitterions, bei dem eine Aminogruppe protoniert vorliegt. Die Vielfalt an NONOaten ist nicht auf Amine als Ausgangsmaterial beschränkt. So kommt es beispielsweise bei der Umsetzung mit Ammoniumsulfid $((\text{NH}_4)_2\text{SO}_3)$ zur Bildung des bekannten **SULFI/NO**.^[32]

Diazenium-diolate sind leicht wasserlöslich. In wässriger Lösung zersetzen sie sich spontan unter Freisetzung von Stickstoffmonoxid. Dem Zerfall der NONOate in wässriger Lösung liegt ein Geschwindigkeitsgesetz erster Ordnung zugrunde, und in Abhängigkeit vom pH-Wert, der Temperatur und dem zugrunde liegenden Amin variieren die Halbwertszeiten von wenigen Minuten bis zu mehreren Stunden.^[32,34] Verdünnte alkalische Lösungen (pH 12) hingegen sind über einen Zeitraum von mehreren Tagen stabil. Im Hinblick auf deren biologische Wirksamkeit wird die Freisetzung von NO in der Regel unter physiologischen Bedingungen betrachtet, das heißt, bei einem pH-Wert von 7.4 und einer Temperatur von 37 °C. An den Beispielen **DEA/NO**, **PAPA/NO**, **SPER/NO**, **DPTA/NO** und **DETA/NO** konnte gezeigt werden, dass die Applikation von NO das Wachstum von Glattmuskelzellen *in vitro* hemmt.^[34] Dieser hemmende Effekt äußerte sich bei **DETA/NO** am deutlichsten, da die Freisetzung von NO hier besonders langsam erfolgte ($t_{1/2}$ = 1200 min, 37°C). Zudem konnte keine Zytotoxizität bezüglich der behandelten Zellen nachgewiesen werden. Nach Behandlung mit **DETA/NO** wurde keine Beeinträchtigung des Zellwachstums festgestellt. Eine gefäß-erweiternde Wirkung (Vasodilatation) bei intravenöser Gabe im allgemeinen Blutkreislauf konnte im Falle des **DEA/NO** beobachtet werden.

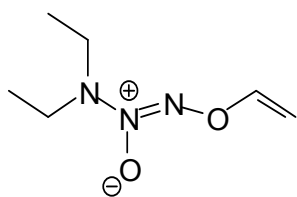
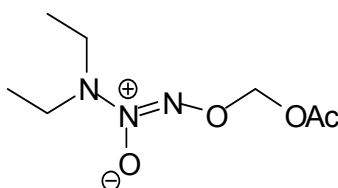
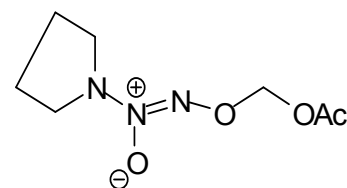
Inzwischen ist die Vielfalt an NONOaten über die Polyamine hinaus sehr groß, und die zugrunde liegenden Synthesen sind zum Teil sehr langwierig und komplex. Verschieden funktionalisierte NONOate scheinen im Hinblick auf die physiologische Wirksamkeit vor allem dann von Interesse zu sein, wenn die spontane Zersetzung unerwünscht ist und das betreffende Derivat vor der Zersetzung erst an eine bestimmte Stelle im Körper transportiert werden soll. Eindrucksvolle Beispiele sind die von KEEFER et al. synthetisierten Piperazin-NONOate.^[35] Hierbei wurde die Bifunktionalität des Piperazins geschickt ausgenutzt, um neben der NONO-Gruppe zusätzliche Substituenten einzuführen. Zahlreiche Substituenten zeigen dabei zum Teil große strukturelle Ähnlichkeiten zu wichtigen Biomolekülen. Wie die folgende Abbildung zeigt, wurden einige Reste R so gewählt, dass beispielsweise Ähnlichkeiten zu den Phospholipiden oder den Nukleinsäuren bestehen.



R	R'	R	R'
H	CH ₃		
H	H ₂ C=CH ₂		
	CH ₂ OCH ₃		CH ₂ OCH ₃
	CH ₂ CH ₂ Br		
	CH ₃		CH ₃
	CH ₃		

Abb.3: Verschieden substituierte Piperazin-NONOate. Durch Variation der Substituenten will man deren Stabilität gegenüber einer spontanen Zersetzung erhöhen. Die NONOate sollen zudem nur für bestimmte Wirkorte zugänglich sein.^[35]

Die O^2 -substituierten *N*-Diazeniumdiolate haben sich als besonders stabil erwiesen. Die spontane Freisetzung von NO erfolgt in ihrem Falle nur sehr langsam oder überhaupt nicht. Erst die Wechselwirkung mit bestimmten Enzymen führt zu einer spontanen NO-Freisetzung. So wird beispielsweise unter der Einwirkung von Leberenzymen der in wässriger Lösung stabile NO-Donor **1** zunächst in die nicht alkylierte Form umgewandelt, um dann sehr schnell ($t_{1/2} = 3$ s) unter physiologischen Bedingungen NO freizusetzen.^[35] Ähnliches beobachtet man bei den NONOaten **2** und **3**. Nur in Gegenwart von Esterasen erfolgt die Freisetzung von NO.^[19]

**1****2****3**

Aufgrund ihrer besonderen Stabilität können O^2 -substituierte NONOate weitere Reaktionen eingehen, bei denen nicht nur unterschiedliche funktionelle Gruppen eingeführt werden, sondern die NONO-Gruppe selbst auch nicht zerstört wird. Die untere Abbildung zeigt diese Reaktionen am Beispiel einiger O^2 -substituierter Diethylamin-NONOate.

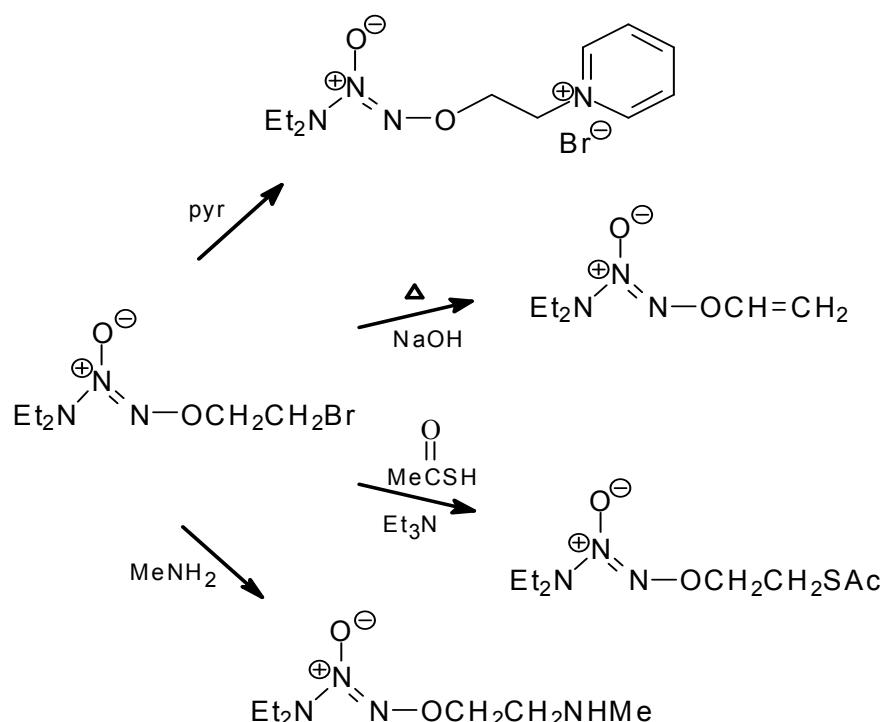


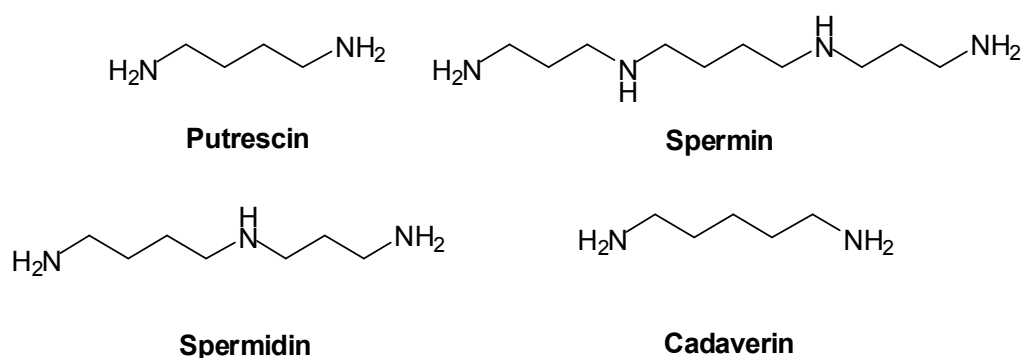
Abb. 4: Durch Folgereaktionen können O^2 -substituierte NONOate weiter verändert werden, ohne dabei die NONO-Gruppe selbst zu zerstören.^[19]

Die Handhabung dieser Verbindungen erwies sich darüber hinaus als besonders praktisch. Einige O^2 -alkylierte Verbindungen beispielsweise sind so stabil, dass sie zur Aufreinigung problemlos chromatographisch gereinigt, destilliert oder umkristallisiert werden können.^[19,35,36]

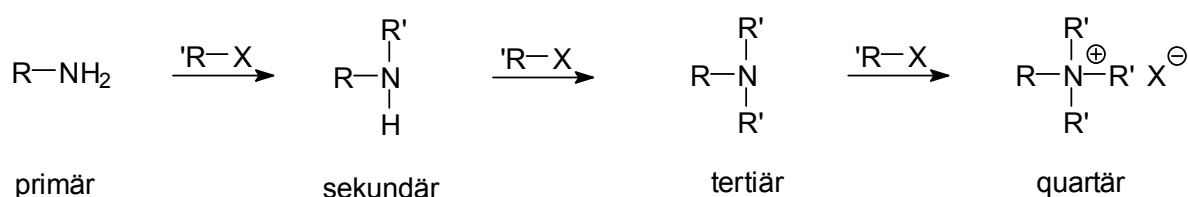
1.4 Allgemeine Synthesestrategien für aliphatische Polyamine

Bei der Synthese von NONOaten spielen aliphatische Amine eine sehr große Rolle, denn eine große Anzahl von ihnen wurde seit Beginn der 1990er Jahre in die entsprechenden NONOate überführt und hinsichtlich ihrer physiologischen Wirksamkeit intensiv untersucht.^[32-35] Aliphatische Polyamine stellen nicht nur geeignete Vorstufen

für NONOate dar, sondern wegen ihrer biologischen Bedeutsamkeit sind sie generell von besonderem Interesse. Zahlreiche biogene Amine sind hoch wirksam. Einige von ihnen fungieren als Vorstufen für Signalstoffe, andere wiederum spielen als Bausteine von Coenzymen eine Rolle. Durch Wechselwirkung mit der DNA tragen diese zur Stabilisierung der Konformation bei. Gleichzeitig spielen sie eine wichtige Rolle bei der Biosynthese und deren Metabolismus. Bekannte Vertreter aus der Klasse der biogenen Amine sind Putrescin, Spermin, Spermidin und Cadaverin.^[37-39]



Eine Reihe von Methoden ist bislang bekannt, um aliphatische Polyamine zu synthetisieren. Zu den am weitesten verbreiteten Methoden zählen die Alkylierung, Reduktion und Michael-Addition. Die Vorgehensweise ist nicht auf eine Methode beschränkt; oftmals werden Kombinationen gewählt, um ein Polyamin zu synthetisieren.^[39-43] Durch *N*-Alkylierung von Aminen beispielsweise kann eine Molekülkette systematisch um zusätzliche Aminfunktionen erweitert werden. Entscheidender Nachteil jedoch ist die Mehrfachalkylierung, bei der es bis zur Bildung von quartären Ammoniumsalzen kommen kann. Monoalkylierungen erreicht man daher nur durch den Einsatz von Schutzgruppen oder durch einen großen Überschuss an Ausgangsamin.^[39-41]



Das Problem der Mehrfachalkylierung kann mit Hilfe der indirekten Alkylierung geschickt umgangen werden. So sind über die Gabriel-Synthese neben α -Aminosäuren auch

zahlreiche primäre Amine zugänglich. Die NH-Funktion im Phthalsäureimid erweist sich im Vergleich zu anderen Amiden als ungewöhnlich acide. Mit einem pK_S -Wert von 8.3 wird es bereits von schwachen Basen wie dem Carbonation leicht deprotoniert. In Substitutionsreaktionen verhält sich das Anion ausreichend nukleophil, so dass durch Umsetzung mit Alkylhalogeniden die entsprechenden *N*-Alkylphthalimide erhalten werden. Deren Hydrolyse liefert schließlich das gewünschte primäre Amin und Phthalsäure.^[41,42]

Aliphatische Amine können auch über Carbonsäurederivate gewonnen werden, insbesondere die Reduktion von Amiden und Nitrilverbindungen wird sehr häufig angewendet. Als Reduktionsmittel haben sich komplexe Hydride wie Lithium-aluminiumhydrid (Amide und Nitrile) und Natriumborhydrid (Nitrile) bewährt, da die Reaktionen im Allgemeinen unter sehr milden Bedingungen ablaufen und zudem hohe Ausbeuten erhalten werden. Darüber hinaus gibt es verschiedene Möglichkeiten der katalytischen Hydrierung. So lassen sich Nitrile mit Wasserstoff auch in Gegenwart von Übergangsmetallkatalysatoren in die entsprechenden Amine überführen. Als Katalysatoren kommen häufig Raney-Nickel, Palladium (Pd/C) und Platin (Pt/C) auf Aktivkohle, Platin(IV)-oxid oder Rhodium auf Aluminiumoxid (Rh/Al₂O₃) zum Einsatz. Die Bandbreite an Katalysatoren ist mittlerweile sehr groß, und zahlreiche davon sind im Handel erhältlich. Da bei der katalytischen Hydrierung von Nitrilen oft auch sekundäre Amine als Nebenprodukte entstehen, ist die Anwesenheit von Ammoniak erforderlich, das gewöhnlich in einem Lösungsmittel gelöst gegenüber dem Nitril im Überschuss vorliegt. Häufig müssen die Verfahren individuell auf die Edukte abgestimmt werden, so dass neben den gebräuchlichen auch selektivere Reduktionsmittel zum Einsatz kommen. Dazu zählen Reagenzien wie Natriumcyanoborhydrid oder Diisobutylaluminiumhydrid (DIBALH). Die Cyano-gruppe beispielsweise erschwert die Fähigkeit, Hydrid auf die zu reduzierende Gruppe zu übertragen. Hinzu kommt, dass es sogar in saurer Lösung (pH 2-3) relativ stabil ist. Ähnlich verhält sich DIBALH. Von Vorteil ist seine bessere Löslichkeit bei tiefen Temperaturen sowie dessen Chemoselektivität gegenüber bestimmten funktionellen Gruppen. Die Anwendbarkeit der Reduktionsmittel ist nicht auf eine bestimmte funktionelle Gruppe beschränkt. So gelingt es manchmal auch, verschiedene Gruppen mit demselben Reduktionsmittel zu reduzieren. Carbonsäurederivate sind vielseitige Vorläufer für Amine. So lassen sich primäre Amide auch durch Oxidation mit Brom oder Chlor in Gegenwart von Natriumhydroxid in die

entsprechende Amine umwandeln. Die als Hofmann-Umlagerung bekannte Reaktion führt stets zu einem Amin, das ein Kohlenstoffatom weniger enthält als im ursprünglichen Amid vorhanden war. Insgesamt wird die Carbonylgruppe als Kohlendioxid abgespalten. Ebenso bieten auch die Curtius- und Schmidt-Umlagerungen einen Zugang zu Aminen. Während man bei der Curtius-Umlagerung Acylhalogenide verwendet, wird bei der Schmidt-Umlagerung direkt von der Carbonsäure ausgegangen. Beide Umlagerungen verlaufen in ähnlicher Weise nach einem Additions-Eliminierungs-Mechanismus. Als Zwischenstufen werden Isocyanate erhalten, die jedoch in Gegenwart von Wasser sofort zum Amin hydrolysiert werden. Isocyanate können im Falle der Curtius-Umlagerung sogar isoliert werden, sofern die Reaktion in einem inerten Lösungsmittel wie Acetonitril durchgeführt wird.^[40-44]

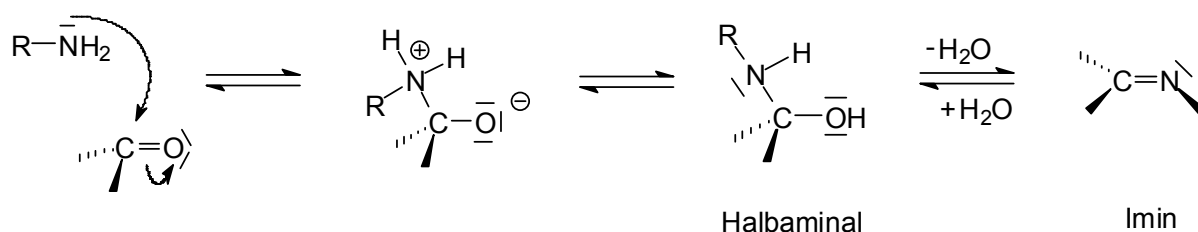
Aliphatische Nitroverbindungen können in salzsaurer Lösung mit unedlen Metallen wie Eisen oder Zink in die primären Amine überführt werden. Zunächst wird die entsprechende Nitrosoverbindung gebildet, die dann in ein substituiertes Hydroxylamin übergeht. Als Endprodukt wird stets das primäre Amin erhalten. In neutraler oder schwach saurer Lösung hingegen verläuft die Reduktion des Hydroxylamins so langsam, dass es für präparative Zwecke sogar isoliert werden kann. Bei Anwesenheit zusätzlicher funktioneller Gruppen hat sich als Reduktionsmittel Zinn(II)-chlorid bewährt. Da aromatische Nitroverbindungen leicht synthetisiert werden können, besitzt die Methode vor allem in der Aromatenchemie einen hohen Stellenwert. Zur Darstellung aliphatischer Amine ist sie jedoch weniger gebräuchlich.^[42,44]

Organische Azide eignen sich besonders dann zur Darstellung von Aminen, wenn das zugrunde liegende Kohlenstoffgerüst nicht erweitert werden soll. Durch Substitutionsreaktion von Alkylhalogeniden mit Natriumazid lassen sich leicht Alkylazide gewinnen, die schließlich in einem weiteren Schritt durch katalytische Hydrierung (Pd/C) zu den gewünschten primären Aminen reduziert werden können. Eine spezielle Variante ist die Mitsunobu-Reaktion, bei der Alkohole in Gegenwart von Triphenylphosphan und Azodicarbonsäurediethylester mit Diphenylazido-phosphat umgesetzt werden.



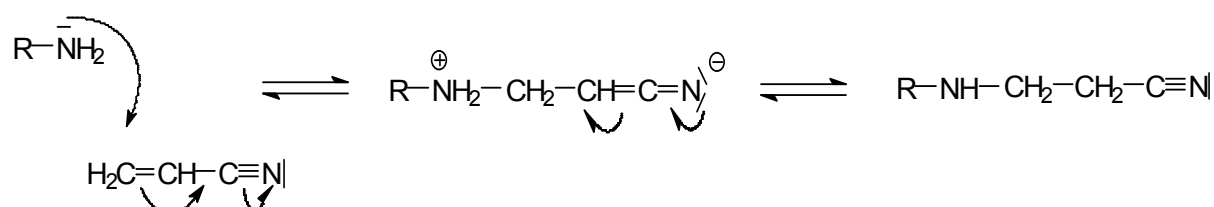
Sie kommt gewöhnlich dann zum Einsatz, wenn neben der Azido-Funktion auch noch weitere funktionelle Gruppen vorhanden sind. Der Weg über die Azide weist gegenüber den anderen Verfahren stets den Nachteil auf, dass zu ihrer Darstellung das sehr giftige Natriumazid verwendet wird.^[39,41,42]

Ammoniak und primäre Amine kondensieren mit Aldehyden und Ketonen unter Bildung von Iminen (Schiffsche Basen). Durch nukleophile Addition der Aminogruppe an die Carbonylfunktion wird zunächst das Halbaminal gebildet, das nach Abspaltung von Wasser direkt in das Imin übergeht. Die Bildung der Schiffschen Base wird also durch Protonierung der Hydroxygruppe eingeleitet. Die Protonierung des stärker basischen Stickstoffatoms hingegen führt zurück zur Carbonylverbindung.



Ebenso wie die Carbonylfunktion in Aldehyden und Ketonen kann auch die Kohlenstoff-Stickstoff-Doppelbindung in den Iminen reduziert werden. Bei der als reduktive Aminierung bekannten Methode wird die Schiffsche Base gewöhnlich nicht isoliert, sondern durch Reduktion direkt in das entsprechende Amin überführt. Von den aliphatischen Aldehyden lassen sich nur die längerkettigen ($C \geq 5$) reduktiv aminieren, während bei den aliphatischen Ketonen keine Schwierigkeiten auftreten. Eine abgewandelte Form der reduktiven Aminierung stellt die Eschweiler-Clark-Reaktion dar, bei der Ameisensäure als Reduktionsmittel dient. Sie eignet sich besonders zur Darstellung von tertiären Aminen und liefert zudem hohe Ausbeuten. Eine ältere Variante ist die Leuckart-Wallach-Reaktion. Sie liefert zwar geringere Ausbeuten, ist aber dafür allgemeiner anwendbar, und bietet einen Zugang sowohl für primäre und sekundäre als auch tertiäre Amine.^[41,42,44]

Die Michael-Addition stellt eine weitere wichtige Methode dar, um Polyamine zu synthetisieren. Umsetzungen von Aminen mit Acrylnitril (Cyanethylierung) spielen dabei eine sehr große Rolle. Die Kohlenstoffdoppelbindung wird für nukleophile Reagenzien leicht zugänglich, sofern sie in α,β -Stellung zu einer Carbonylgruppe oder einer carbonylanalogen Gruppe steht.



Da im Acrylnitril die Doppelbindung in α,β -Stellung zur Cyanogruppe steht, kann das β -Kohlenstoffatom der Doppelbindung von Nukleophilen leicht angegriffen werden. So gelingt die Cyanethylierung nicht nur mit Ammoniak und Aminen, sondern auch mit Alkoholen, mit Phenol und seinen Derivaten, mit Schwefelwasserstoff sowie mit zahlreichen CH-aciden Verbindungen.^[38-40,44]

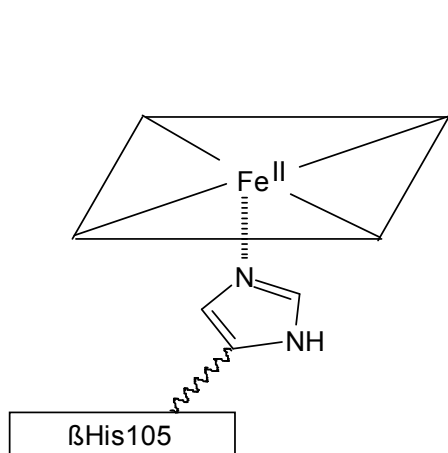
1.5 Natürliche und Modellrezeptoren für Stickstoffmonoxid (NO)

1.5.1 Die zytosolische Guanylat-Zyklase als natürlicher Rezeptor für NO

Bei der Bindung eines Wirkstoffs an einen Rezeptor können ionische Wechselwirkungen, Wasserstoffbrückenbindungen, Ion-Dipol- und Dipol-Dipol- sowie hydrophobe Wechselwirkungen eine wichtige Rolle spielen. Hydrophobe Wechselwirkungen sind dabei für die Chemie *in vivo* ebenso von Bedeutung wie beispielsweise ionische Wechselwirkungen oder Wasserstoffbrückenbindungen. In seiner Eigenschaft als Radikal besitzt Stickstoffmonoxid im Organismus nur eine sehr kurze Lebensdauer von wenigen Sekunden. Da es aber sehr leicht durch Gewebe (Membranen) diffundieren kann, ist seine Reichweite trotz der kurzen Lebensdauer recht groß.^[5-7] Ein natürlicher Rezeptor für NO ist die im Zytosol gelöste Guanylat-Zyklase (sGC). Stickstoffmonoxid ist ausreichend lipophil, um natürliche Membranen ohne einen Carrier zu überwinden. Ausgehend von den Zellen, in denen es gebildet wurde, diffundiert es rasch in die umliegenden Nachbarzellen, um dann das im Zytosol gelöste Enzym sGC zu aktivieren. Als Folge dieser Aktivierung kommt es zur Bildung des *second messengers* cyclo-GMP (cyclo-Guanosinmonophosphat), das wiederum als

intrazelluläres Signal-molekül die Aktivität verschiedener Proteinkinasen und Phosphodiesterasen sowie die Öffnung von Ionenkanälen beeinflusst und so eine Zellantwort auslöst.^[45-48] Die mechanistischen Details der Aktivierung von sGC sind noch nicht vollständig geklärt, ebenso liegt bislang keine Kristallstruktur der zytosolischen Guanylat-Zyklase vor. Bei der sGC handelt es sich um ein heterodimers Enzym, bestehend aus einer α - und einer β -Untereinheit sowie einer nicht kovalent gebundenen prosthetischen Gruppe (Hämgruppe in der *N*-terminalen Hälfte der β -Untereinheit), an der Stickstoffmonoxid gebunden werden kann. Bei der Bindung von NO an das Häm-Eisen wird die Eisen-Histidin-Bindung gelöst, und die Dissoziation des proximalen Liganden führt schließlich zur Aktivierung (Konformationsänderung) des Enzyms. Die Aktivierung ist beträchtlich. Das aktivierte Enzym zeigt einen bis zu 400 fachen Anstieg in der Maximalgeschwindigkeit v_{\max} .^[48] Zahlreiche Experimente bestätigen diesen Mechanismus der Aktivierung. So beobachtet man einen vollständigen Verlust der Aktivierbarkeit von sGC nach Punktmutation, dem Austausch von His105 durch beispielsweise Serin oder Phenylalanin. In Abwesenheit der Hämgruppe kann die sGC durch NO nicht aktiviert werden. Der Zusatz von Protoporphyrin IX (Häm ohne Eisenzentrum) zur Häm-freien-Guanylat-Zyklase initiiert die Wirkung des NO-Häm-Komplexes, da die Bindung von Protoporphyrin IX wegen der fehlenden sterischen Hinderung durch das Häm-Eisenzentrum die Freilegung des katalytischen Zentrums ermöglicht.^[46-48]

inaktiv



aktivierter Zustand

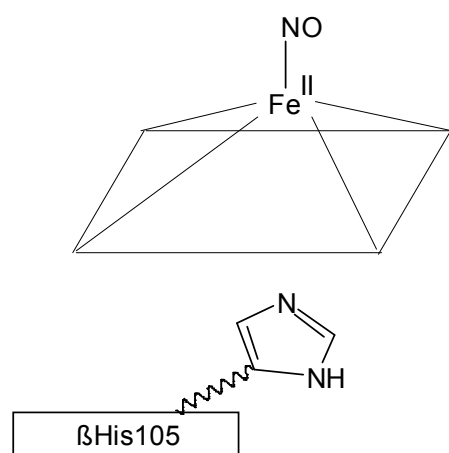


Abb.5: Wahrscheinlicher Mechanismus der Aktivierung von sGC durch NO. Die Aktivierung erfolgt durch Änderung der Konformation, nach Dissoziation der Eisen-Histidin-Bindung.^[47,48]

Vor etwa zwei Jahren konnte gezeigt werden, dass es sich bei der zytosolischen Guanylat-Zyklase um kein rein lösliches Protein handelt. Arbeitsgruppen aus Gießen, Würzburg und San Diego erbrachten den Beweis, dass dieser NO-Rezeptor in zahlreichen Zellverbänden zumindest teilweise mit der Zellmembran verbunden ist, und zwar in unmittelbarer Nähe zu den NO produzierenden Enzymen. Sie vermuteten, dass Stickstoffmonoxid im Organismus möglicherweise eine weitaus geringere Stabilität besitzt als bisher angenommen, und theoretische Überlegungen ihrerseits sprachen gegen eine Diffusion von NO durch mehrere Zellschichten. Die räumliche Nähe des Rezeptors zu den NO produzierenden Enzymen scheint daher aufgrund der Kurzlebigkeit von NO sinnvoll. Darüber hinaus konnte gezeigt werden, dass der Rezeptor viel empfindlicher auf Stickstoffmonoxid reagiert, wenn dieser mit der Membran assoziiert war.^[49]

1.5.2 Glykosaminoglykane (GAGs) als Rezeptoren für NO

Damit Vasodilatoren ihre Wirksamkeit optimal entfalten, muss die Kurzlebigkeit von NO im Organismus berücksichtigt werden. Die Freisetzung des Radikals sollte möglichst selektiv in unmittelbarer Nähe zum natürlichen Rezeptor (sGC) erfolgen, damit dieser nach Aufnahme von NO aktiviert wird und die entsprechende Zellantwort liefern kann. Als Rezeptoren für die Freisetzung von NO aus Vasodilatoren kommen neben natürlichen Plasmamembranen auch bestimmte Komponenten der extrazellulären Matrix (EZM) in Betracht. Als Komponenten der EZM scheinen geradezu die stark negativ geladenen und hydrophilen Glykosaminoglykane geeignet zu sein. Das von den Donatoren freigesetzte NO benötigt nach Wechselwirkung mit dem Rezeptor nur kurze Wege, da in beiden Fällen die unmittelbare Nähe zur zytosolischen Guanylat-Zyklase gewährleistet ist.

Die extrazelluläre Matrix besteht im Wesentlichen aus einem dichten Netzwerk von Heteropolysacchariden und Faserproteinen und füllt in menschlichem wie tierischem Gewebe die Räume zwischen den Zellen aus. Sie verleiht dem Gewebe Zugfestigkeit, Flexibilität und Elastizität. Sie dient der Verankerung von Zellen und spielt eine wichtige Rolle bei der Zell-Zell-Kommunikation. Gleichzeitig ermöglicht die extrazelluläre Matrix aufgrund ihrer Porosität die Diffusion von Nährstoffen und Sauerstoff zu den einzelnen Zellen. Struktur und Zusammensetzung der EZM können sehr stark variieren, je

nachdem, welcher Gewebetyp vorliegt. Die extrazelluläre Matrix ist ein komplexes dreidimensionales Netzwerk, bestehend aus mehreren Komponenten wie dem Kollagen, den Glykoproteinen und anderen Proteinen, den Proteoglykanen und dem Polysaccharid Hyaluronsäure.^[50-55] Proteoglykane sind Makromoleküle, bestehend aus Proteinen und verschiedenen Heteropolysacchariden. Der Name weist auf einen zum Teil sehr hohen Gehalt an Kohlenhydraten hin. Dessen Anteil am Gesamtgewicht kann sogar bis zu 95% ausmachen. Elektronenmikroskopische Aufnahmen zeigen sehr schön, dass Proteoglykanmoleküle vom Aufbau her einer Flaschenbürste ähneln.^[51,52-55]

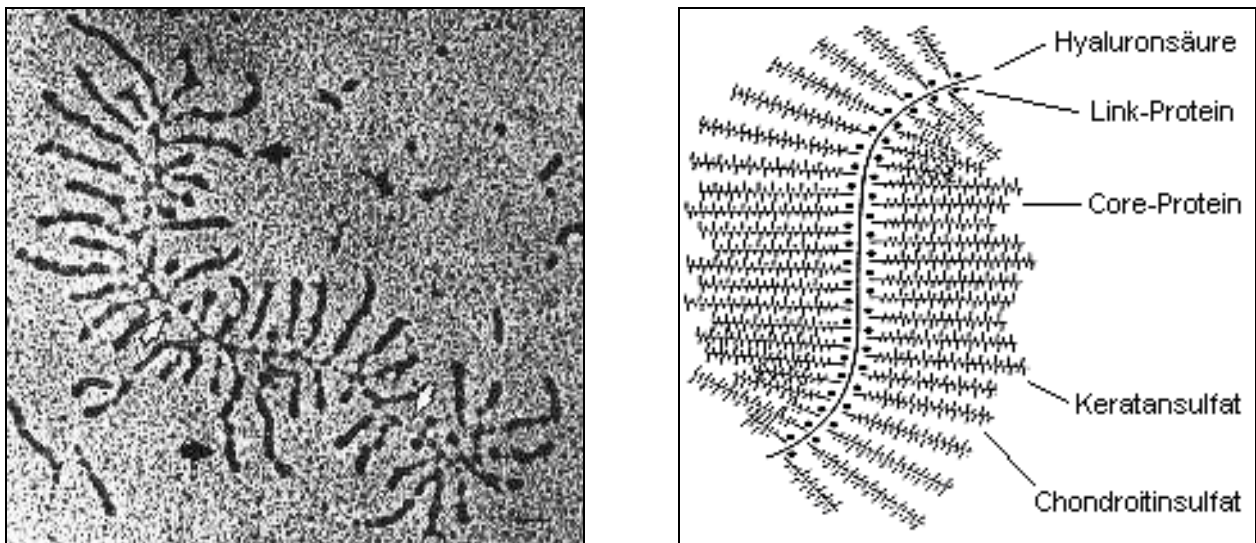


Abb. 6: Elektronenmikroskopische Aufnahme eines Proteoglykans (links) und schematischer Aufbau nach dem Flaschenbürstenmodell (rechts).^[51]

Die einzelnen Untereinheiten im Proteoglykan binden zum Teil kovalent, zum Teil nicht kovalent aneinander. Die Borsten sind in Abständen von 20 bis 30 nm nichtkovalent an ein fadenförmiges Heteropolysaccharid gebunden, das auch als Hyaluronsäure-Rückgrat bezeichnet wird. Die Borsten selbst bestehen aus einem Kernprotein (Core-Protein), an das kovalent weitere Heteropolysaccharide gebunden sind. Die gewöhnlich als Glykosaminoglykane (GAGs) bezeichneten Heteropolysaccharide sind unverzweigte Polysaccharidketten, die aus sich wiederholenden Disaccharid-einheiten aufgebaut sind. Zu den häufig vorkommenden Glykosaminoglykanen zählen neben der Hyaluronsäure auch das Chondroitinsulfat, Dermatansulfat, Keratansulfat sowie Heparansulfat und Heparin. Diese können sich über eine Länge von 50 bis 1000 sulfatierten Disaccharideinheiten erstrecken. Das Hyaluronsäure-Rückgrat ist besonders lang und setzt sich aus 250 bis 25000 Disaccharideinheiten zusammen. Eines der beiden Monosaccharide ist immer ein Aminozucker, entweder *N*-Acetylglucosamin oder

N-Acetylgalactosamin. Bei dem anderen Monosaccharid handelt es sich um eine Uronsäure, in der Regel Glucuron- oder Iduronsäure. Das Besondere an den GAGs ist deren hohe negative Ladungsdichte, verursacht durch eine sehr hohe Anzahl von Carboxylat- und Sulfatgruppen im Polymer. Der polyanionische Charakter sorgt für einen enorm großen Hydratisierungsgrad, weshalb die GAGs innerhalb der extrazellulären Matrix auch den größten Raum beanspruchen. Die untere Abbildung zeigt die sich wiederholenden Disaccharid-einheiten von einigen häufig vorkommenden Glykosaminoglykanen.^[51,52-55]

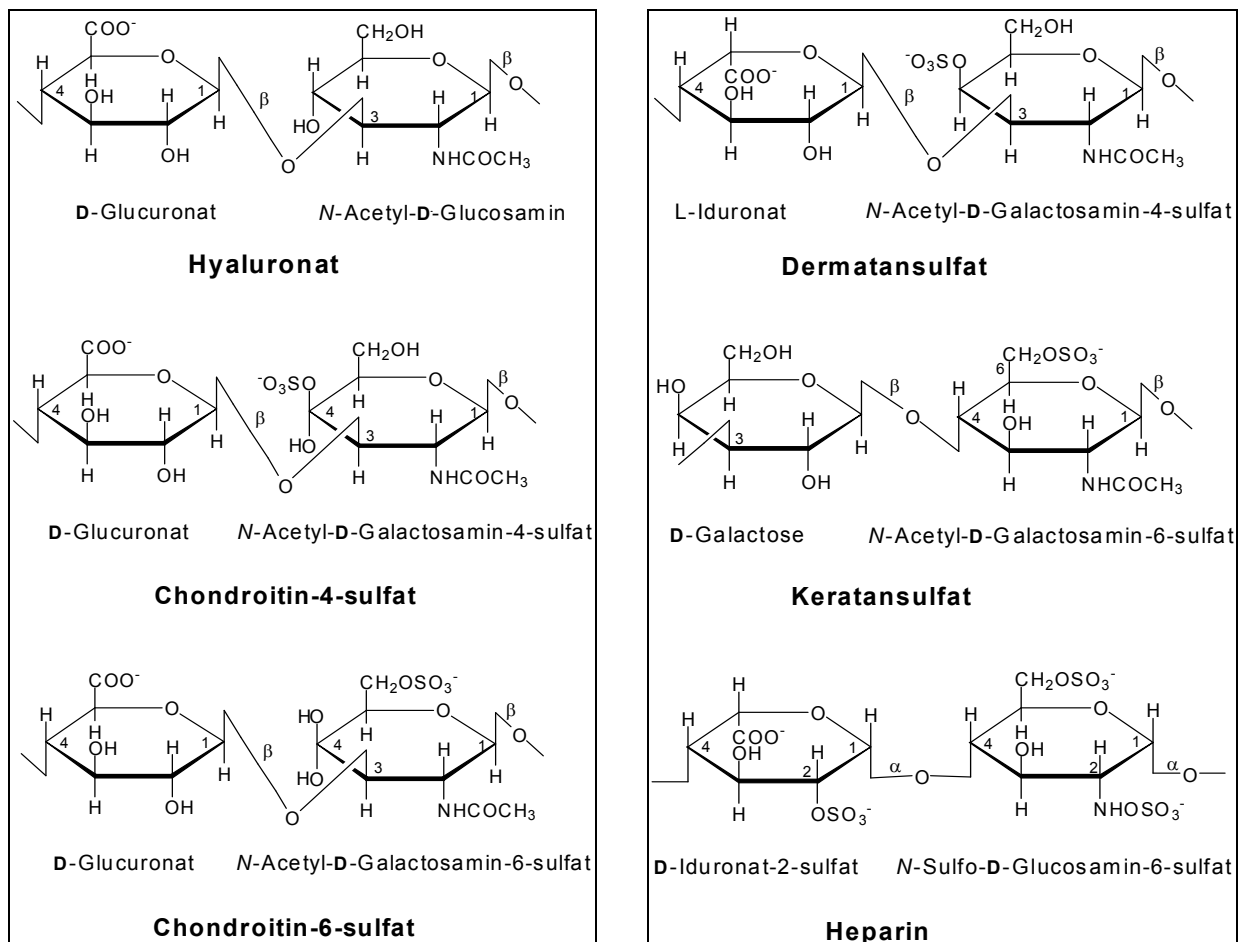


Abb. 7: Häufig vorkommende Glykosaminoglykane und deren sich wiederholende Disaccharideinheiten. Die Saccharideinheiten der GAGs tragen neben den Sulfat- auch Carboxylatgruppen, so dass eine sehr hohe negative Ladungsdichte resultiert.^[55]

1.5.3 Natürliche Membranen als Rezeptoren für NO

Eine detaillierte Vorstellung über den Aufbau einer Biomembran liefert das sogenannte Flüssig-Mosaik-Modell, das 1972 von Singer und Nicolson vorgeschlagen wurde. Dem war viele Jahre zuvor (1928) das Experiment von Gorter und Grendel vorausgegangen, die zeigen konnten, dass es sich bei natürlichen Membranen um Phospholipid-Doppelschichten handelt. Sieben Jahre später stellten Davson und Danielli ein verfeinertes Modell vor, das eine Vorstellung über die Verteilung der Proteine auf der Membran gibt. Sie schlugen vor, dass die Phospholipidschicht sandwichartig zwischen zwei Proteinschichten liegt. Diese Vorstellung blieb auch in etwas abgewandelter Form bis in die frühen 1970er Jahre allgemein anerkannt. Charakteristisch für das Flüssig-Mosaik-Modell sind neben der bekannten Phospholipid-Doppelschicht die eingebetteten Proteine. Sogenannte integrale Proteine durchdringen die Doppelschicht, während periphere Proteine nur teilweise in die Lipidschicht hineintauchen. Andere wiederum sind nur an die Oberfläche der Membran angelagert oder durch einen Lipid-Anker mit ihr verbunden. Einen weiteren Bestandteil stellen Kohlenhydratketten in Form von Glykolipiden und Glykoproteinen dar.^[37,56,57]

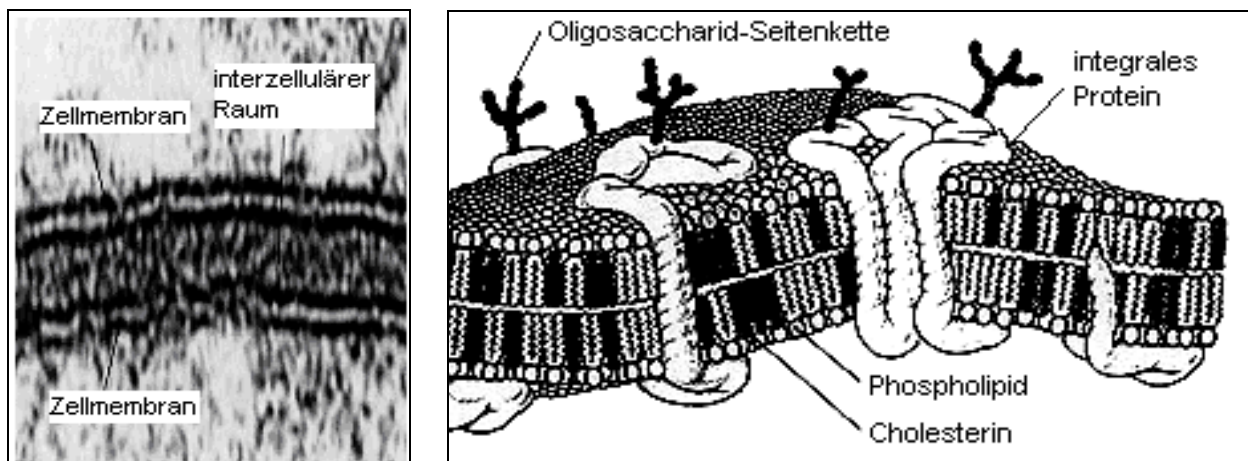


Abb.8: Elektronenmikroskopische Aufnahme einer natürlichen Membran (links). Schematischer Aufbau eines Ausschnittes aus einer Biomembran nach dem Flüssig-Mosaik-Modell von Singer und Nicolson aus dem Jahre 1972.^[37,56]

Die Lipid-Doppelschicht ist asymmetrisch aufgebaut, was bedeutet, dass beide Hälften keine einheitliche chemische Zusammensetzung aufweisen. Das gilt zum einen für die Verteilung der Proteine und deren Orientierung in und auf der Membran, zum anderen besitzen beide Schichten eine unterschiedliche Phospho- und Glykolipid-Zusammensetzung.^[37] Die Dicke einer Doppelschicht liegt bei etwa 4 nm. Ungefähr 0.5

nm beanspruchen die polaren Kopfgruppen, während die Länge der hydrophoben Schwänze bei etwa 1.5 nm liegt.^[57] Neben der Asymmetrie einer Biomembran kann das Verhältnis von Protein zu Lipid sehr unterschiedlich sein. Die Grundbausteine biologischer Membranen sind neben den Glykolipiden und Cholesterol die Phospholipide (Phosphatide), amphiphile Moleküle mit einer dipolartigen Struktur. Chemisch betrachtet handelt es sich bei den Phosphatiden um Phosphorsäurediester, bei denen die Phosphorsäure einerseits mit einem Sphingosin- oder Glycerol-Derivat verknüpft ist, andererseits mit einem primären Alkohol wie Cholin, Ethanolamin, Serin, Inositol oder Glycerol. Hieraus resultieren die am weitesten verbreiteten Phospholipide. Der hydrophile Kopf (Kopfgruppe) wird durch die Phosphatgruppe repräsentiert, während der hydrophobe Schwanz aus zwei unpolaren Fettsäuren besteht. Die hydrophile Kopfgruppe kann entweder einfach negativ geladen oder neutral sein. Zu den negativ geladenen Vertretern zählen beispielsweise Phosphatidylserin (PS), Phosphatidylglycerol (PG) und Phosphatidylinositol (PI). Phosphatidylcholin (PC) und Phosphatidylethanolamin (PE) liegen hingegen als Zwitterionen vor. Etwa Zweidrittel der Gesamtlänge eines Phospholipids beanspruchen die hydrophoben Schwänze. Typisch für alle gebundenen Fettsäuren ist die geradzahlige Kohlenstoffkette, deren Länge zwischen 14 und 24 variieren kann. Natürliche Phospholipide tragen am Glyceringerüst immer zwei unterschiedliche Fettsäurereste. Häufig ist einer dieser Reste ungesättigt und liegt in der *cis*-Konfiguration vor.^[37,57] Um die vielfältigen und zugleich auch bemerkenswerten Funktionen von Biomembranen zu verstehen, muss man deren mechanische Eigenschaften sowie deren elektrostatische Struktur näher betrachten. Bemerkenswert ist, dass Membrane *flüssige* Strukturen sind, nämlich zweidimensionale Lösungen gerichteter Proteine und Lipide. Lipidmoleküle sind daher auch in der Lage, rasch in die Membranebene zu diffundieren. Die Moleküle können rotieren, sich biegen und in der Membranebene bewegen. Proteine, die nicht durch spezifische Wechselwirkungen festgehalten werden, bewegen sich daher senkrecht zur Membranebene (laterale Diffusion). Verantwortlich für diese Fluidität sind neben der Art und Zusammensetzung der Lipide auch der Cholesterolgehalt und die Temperatur.^[37,51,56-58] Aus der elektrostatischen Struktur der Membrane lassen sich weitere bemerkenswerte Eigenschaften ableiten. Natürliche Membranen sind wegen ihres unpolaren Innenbereichs grundsätzlich undurchlässig für geladene und wasserlösliche Moleküle. Nur sehr kleine und unpolare Moleküle wie Sauerstoff, Stickstoff, Kohlendioxid, Ammoniak und andere Gase können die Barriere relativ leicht

überwinden. Der Transport von größeren Molekülen wie etwa polare Nährstoffe und Ionen erfordert andere Wege und Mechanismen und erfolgt selektiv über die integralen Membranproteine.^[37] Aufgrund unterschiedlicher Ionenkonzentrationen inner- und außerhalb der Zelle resultiert ein Membranpotential (Trans-membranpotential), das durch den Transport (Diffusion) von Ionen verändert werden kann bzw. aufrechterhalten bleibt. Ladungen passieren die Membran, so dass zunächst eine partielle Ladungstrennung erfolgt. Über die Membran hinweg baut sich eine Potentialdifferenz (Spannung) auf, wobei das elektrische Feld einer weiteren Diffusion von Ionen entgegenwirkt. Im Gleichgewichtszustand sind das Diffusionspotential und das elektrische Feld entgegengesetzt gerichtet und gleich groß. Trotz ihrer geringen Schichtdicke von etwa 8 nm sind natürliche Membranen hervorragende Isolatoren mit einem hohen elektrischen Widerstand. Als Dielektrikum verhalten sich Membrane ähnlich wie Kondensatoren und besitzen daher auch eine messbare spezifische Kapazität. Für eine große Anzahl unterschiedlicher Zelltypen findet man einen nahezu identischen Wert von etwa $1 \mu\text{F} \cdot \text{cm}^{-2}$. Das entspricht in etwa der doppelten Lipidschicht mit einer Dicke von 8 nm.^[58-60] Natürliche Membranen verfügen über eine sehr große Anzahl von negativen Festladungen. An der äußeren Oberfläche werden diese vor allem durch die Carboxylatgruppen der Neuraminsäuren repräsentiert, die wiederum hauptsächlich an den distalen Enden der Glykoproteine zu finden sind. Mit einer Oberfläche von etwa $140 \mu\text{m}^2$ tragen die Erythrozyten des Menschen ca. 10^7 solcher Ladungen. Generell bewegt sich die Flächenladungsdichte in einem Bereich zwischen -0.01 bis $-0.02 \text{ C} \cdot \text{m}^{-2}$. Weitere Ladungsträger sind die negativ geladenen Kopfgruppen der Phospholipide. Im Falle der menschlichen Erythrozyten ist eine große Anzahl des negativ geladenen Phosphatidylserins ausschließlich nach innen gerichtet und erzeugt dadurch eine noch höhere Flächenladungsdichte von ca. $-0.09 \text{ C} \cdot \text{m}^{-2}$ auf der Innenseite. Die unterschiedliche Ladungsverteilung an der Oberfläche führt also zu einem unterschiedlichen Potentialverlauf. Die Potentialdifferenz $\Delta\phi$ ergibt sich nach dieser Ladungsverteilung direkt als Differenz der Einzelpotentiale ϕ_i und ϕ_e an der inneren und äußeren Grenzfläche. Die untere Abbildung (rechts) zeigt schematisch, dass den natürlichen Membranen zur EZM-Seite hin eine Schicht vorgelagert ist, die als Glykokalyx (engl. *surface coat*) bezeichnet wird.^[59] Fixierte Ladungen, wie sie beispielsweise in der Glykokalyx fest verankert sind, erzeugen in ihrer unmittelbaren Nähe ein elektrisches Feld und ändern somit die lokale Ionenkonzentration. Aufgrund elektrostatischer Wechselwirkungen werden Gegenionen in der Lösung von den

fixierten Festladungen angezogen, und im einfachsten Fall kommt es entlang einer geladenen Fläche zur Bildung einer elektrischen Doppelschicht.^[57,59,60]

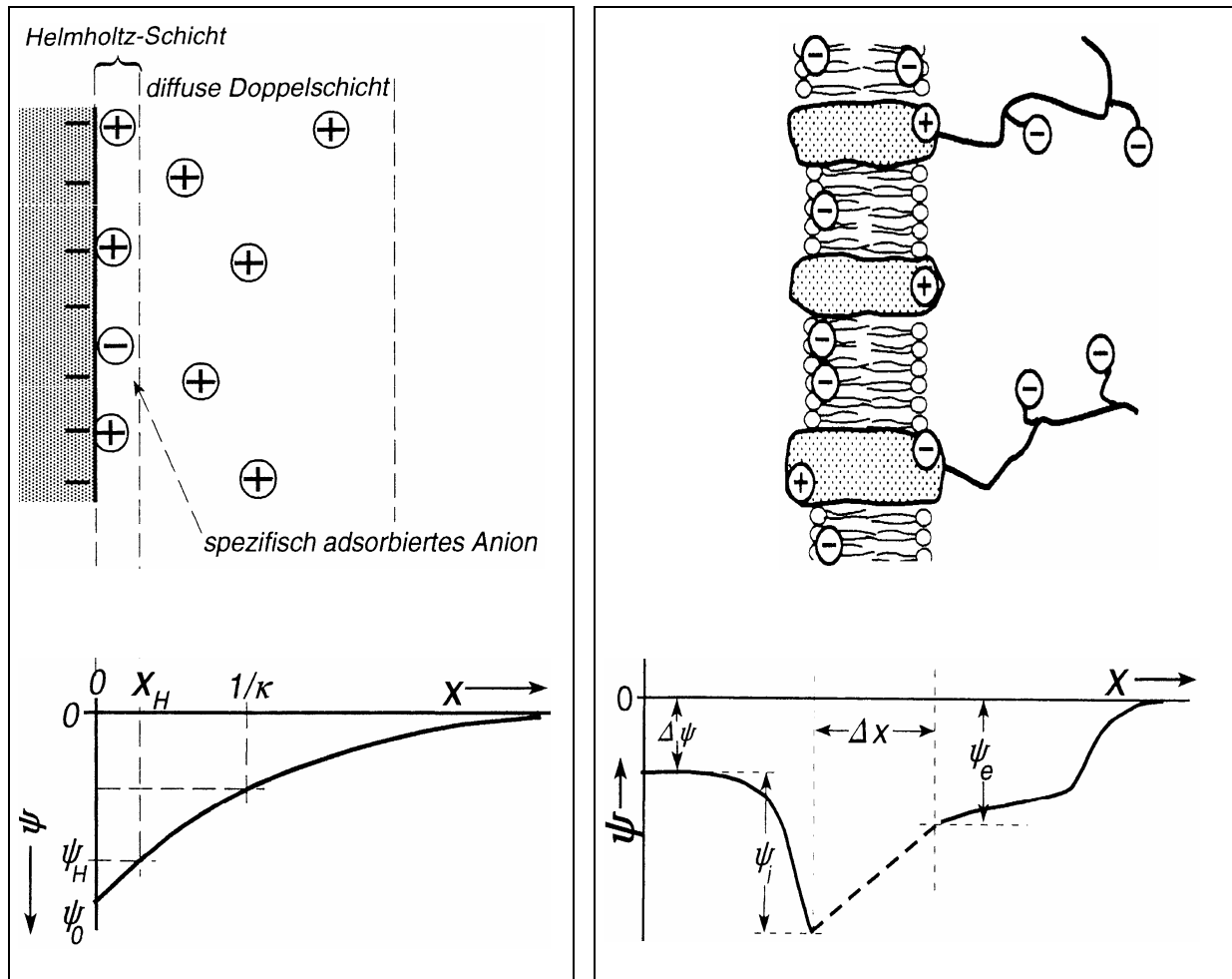


Abb. 9: Schematische Darstellung einer elektrischen Doppelschicht nach dem Modell von Stern (links). Charakteristisch ist die zusätzliche diffuse Schicht. Die Debye-Hückel-Länge ist ein Maß für die Dicke dieser Schicht. Schematische Darstellung der Ladungsverteilung und des Potentialverlaufs an einer Zellmembran (rechts).^[59]

Helmholtz prägte vor etwa 100 Jahren als Erster den Begriff der elektrischen Doppelschicht. Sein Modell gleicht idealerweise einem molekularen Plattenkondensator, der aus zwei parallelen Schichten entgegengesetzter Ladungen besteht. Nach dem Prinzip der Elektroneutralität werden positive Ladungen von einer gleichen Anzahl negativer Ladungen kompensiert und umgekehrt. Die daraus resultierende starre Schicht (Helmholtz-Schicht) zeigt senkrecht zur Grenzfläche einen linearen Potentialverlauf. Im Verlaufe des 20. Jahrhunderts sind verfeinerte Modellvorstellungen entwickelt worden, unter anderem von Gouy und Chapman, Stern, Grahame und Bockris. Um die Ladungsverteilung entlang der äußeren Grenzfläche einer natürlichen

Membran besser zu verstehen, kann das Modell von Stern herangezogen werden. Stern kombinierte die Vorstellungen von Helmholtz mit denen von Gouy und Chapman aus dem Jahre 1920, die anstelle einer starren nun von einer diffusen Schicht ausgingen. Als Konsequenz hieraus erhielten sie für das Potential einen exponentiellen Verlauf.^[57] Der Potentialabfall längs einer diffusen Schicht reicht weit in die Lösung (*bulk-Phase*) hinein. Das links gezeigte Schema in Abb. 9 zeigt die Ladungsverteilung und den Potentialverlauf entsprechend dem Modell nach Stern. Innerhalb der starren Helmholtz-Schicht fällt das Potential ψ linear von ψ_H auf ψ_0 ab. Mit Beginn der diffusen Schicht ($\psi(x) = \psi(x_H) = \psi_H$) folgt das Potential jedoch einem exponentiellen Verlauf. Ausgangspunkt für die mathematische Beschreibung der diffusen Doppelschicht ist die Poisson-Boltzmann-Gleichung (1), ein Formalismus, der bereits von Debye und Hückel verwendet wurde zur Beschreibung der Theorie der starken Elektrolyte. Der Beitrag von Boltzmann berücksichtigt die statistische Verteilung der Ladungen in der Doppelschicht als Funktion $\rho(x)$, während in der Poisson-Gleichung $\psi(x)$ der Potentialverlauf in Abhängigkeit von der Ladungsdichte beschrieben wird.

$$\frac{d^2 \psi(x)}{dx^2} = -\frac{\rho(x)}{\epsilon_r \epsilon_0} \quad (1)$$

Die Boltzmann-Statistik liefert einen Ausdruck für die Ladungsdichte $\rho(x)$ in Form von Gleichung (2). Nach Einsetzen dieser Ladungsdichte in Gleichung (1) erhält man eine lineare homogene Differentialgleichung, deren Lösung unter Berücksichtigung der Randbedingungen [$\psi(\infty) = 0$ und $\psi(0) = \psi_H$] Gleichung (5) liefert.

$$\rho(x) = \frac{2N_A e^2 I}{kT} \cdot \psi(x) \quad (2)$$

$$\frac{d^2 \psi(x)}{dx^2} + \frac{2N_A e^2 I}{\epsilon_r \epsilon_0 kT} \cdot \psi(x) = 0 \quad (3)$$

$$\frac{d^2 \psi(x)}{dx^2} + \kappa^2 \cdot \psi(x) = 0 \quad (4)$$

$$\psi(x) = \psi_H e^{-\kappa x} \quad (5)$$

Gleichung 5 gibt den exponentiellen Potentialverlauf wieder, wobei $\kappa^2 = \frac{2N_A e^2 I}{\epsilon_r \epsilon_0 kT}$ gilt.

Der reziproke Wert $1/\kappa$ kann als effektive Dicke der diffusen Schicht interpretiert werden. An der Stelle $1/\kappa$ ist der Betrag des Potentials auf $1/e$ des Maximalwertes abgefallen. Die Helmholtz-Schicht ist umso stärker besetzt, je höher die Ionenstärke I der Lösung ist. Ist

die Ionenstärke sehr klein, so kann die starre Schicht vernachlässigt werden, und es gilt

$$\psi_H = \psi_0. \quad [59-61]$$

Das Vorhandensein von elektrischen Doppelschichten an biologischen Membranen hat vor allem zur Folge, dass entlang der Grenzfläche lokale Ionenkonzentrationen auftreten. Dies wiederum führt zu einer lokalen pH-Wert-Erniedrigung innerhalb der Doppelschicht. Dessen Verlauf wird in Abb. 10 schematisch wiedergegeben.^[59]

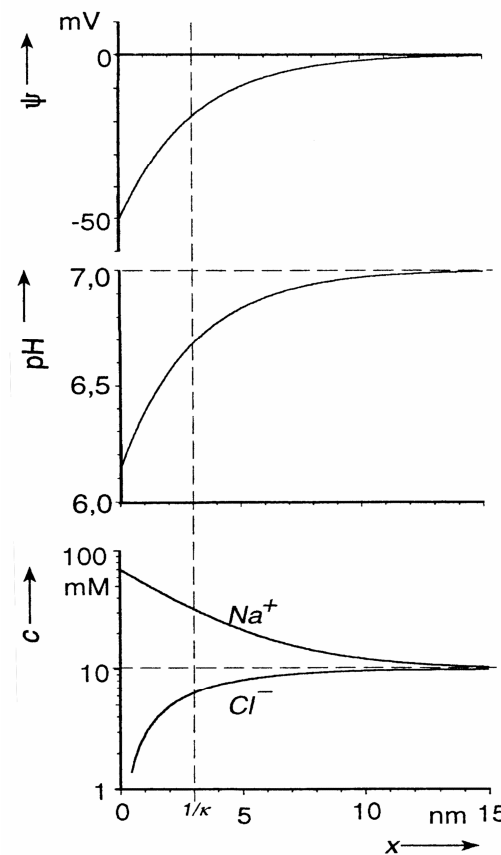


Abb. 10: Potential- und pH-Verlauf in der Nähe einer negativ geladenen Grenzfläche in einer diffusen Doppelschicht. Das untere Bild zeigt das generelle Verhalten der Ionenkonzentration am Beispiel von Natrium und Chlorid. Folgende Parameter wurden hierbei berücksichtigt: $\psi_0 = -50$ mV, $\text{pH} = 7.0$, $c(\text{Na}^+) = c(\text{Cl}^-) = 10$ mM, $T = 298$ K. Die Dicke der diffusen Schicht beträgt unter diesen Voraussetzungen etwa 3 nm.^[59]

Das Modell der elektrischen Doppelschicht kann nur als grobe Annäherung an die tatsächlichen Verhältnisse dienen. In Abb. 10 wird schematisch gezeigt, dass der natürlichen Membran die Glykokalyx vorgelagert ist. Die effektive Reichweite der elektrischen Potentiale außerhalb der Zelle ist also weniger durch die Debye-Hückel-

Länge, als vielmehr durch die Ausdehnung der Glykokalyx bestimmt. Das Modell der elektrischen Doppelschicht beschränkt sich zudem nur auf eine Dimension (vgl. Potentialverlauf entlang der x-Achse in Abb. 10), so dass die mathematische Beschreibung sehr einfach wird. In Wirklichkeit jedoch sind die Ladungen räumlich verteilt. Die mathematische Beschreibung wird sehr kompliziert und aufwendig, so dass sich zwangsläufig Abweichungen vom Stern-Modell ergeben. Das Modell von Stern ist dennoch geeignet, insbesondere um das Auftreten lokaler Ionenkonzentrationen sowie lokaler pH-Werte an der Membranoberfläche zu verstehen.

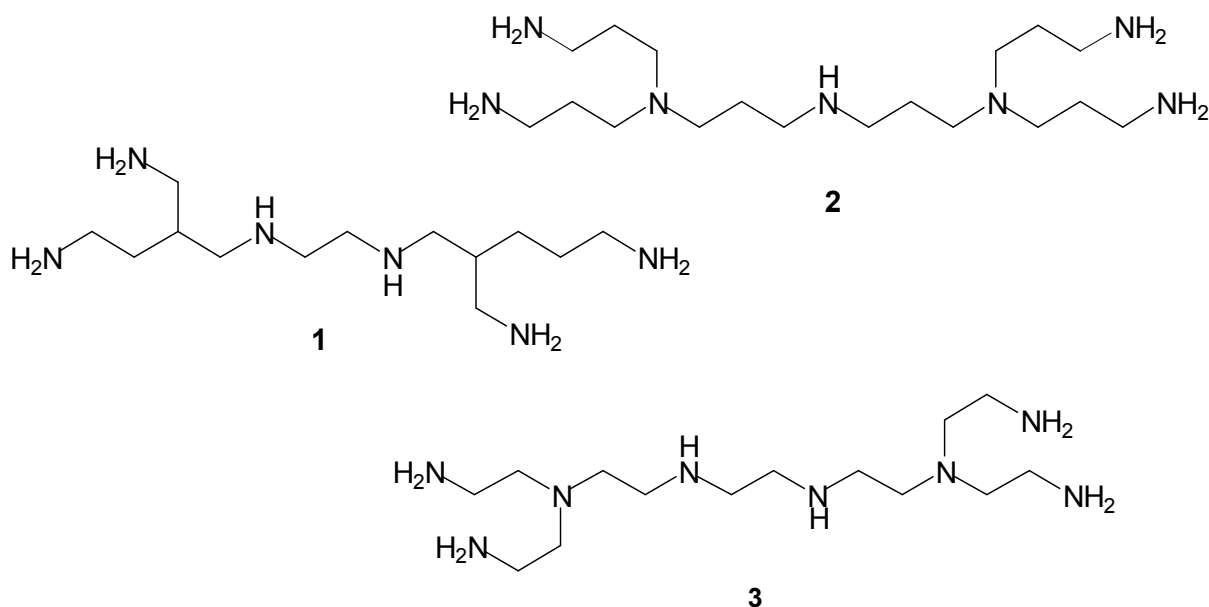
2 Zielsetzung

NONOate von unverzweigten aliphatischen Aminen wie Diethylentriamin (**DETA/NO**), Dipropylentriamin (**DPTA/NO**), Spermin (**SPER/NO**) oder Propylaminopropylamin (**PAPA/NO**) sind bekannt und hinsichtlich ihrer Stabilität detailliert untersucht worden. Was die Zukunft betrifft, so ist man bestrebt, besonders stabile NONOate zu synthetisieren. Durch besonders stabile NONOate besteht nämlich die Aussicht, dass diese auch für einen bestimmten Rezeptor zugänglich gemacht werden können, ohne auf dem Weg dorthin zersetzt zu werden. Nicht die spontane Freisetzung von NO ist erwünscht, sondern unter Berücksichtigung der pharmakologischen Einsatzmöglichkeiten möchte man die Applikation von NO auch selektiv gestalten. ^[32-34]

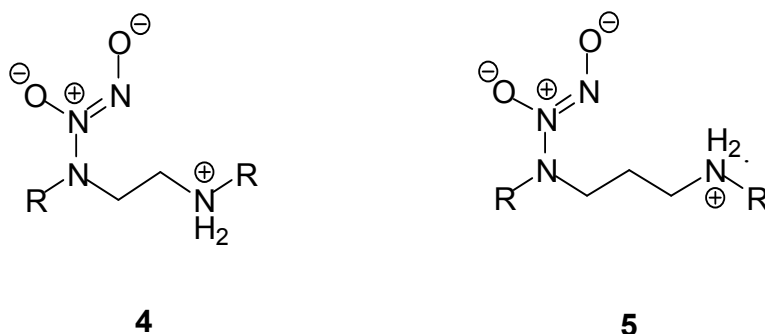
Verzweigte aliphatische Polyamine stellen attraktive Vorläufer für *N*-Diazeniumdiolate dar, denn sie sollten im Gegensatz zu den linear strukturierten Aminen die NONO-Gruppe noch besser stabilisieren. Aufgrund ihrer besonderen Struktur und der Vielzahl an Aminogruppen erwartet man, dass erst durch Wechselwirkung mit einem Rezeptor eine Destabilisierung erfolgt und Stickstoffmonoxid selektiv freigesetzt wird. Mögliche Wechselwirkungen wären dann im Falle der Glykosaminoglykane entweder ionischen Ursprungs oder könnten durch Ausbildung von Wasserstoffbrückenbindungen hervorgerufen sein.

Aliphatische Amine sind über die Alkylierung, Reduktion und Michael-Addition zugänglich.^[38-40] Allen Synthesen ist gemeinsam, dass die Polyamine ausgehend von kleinen Molekülen systematisch aufgebaut werden. Geeignete Bausteine zum Aufbau dieser Amine sind vor allem einfache Verbindungen wie Acrylnitril, Ethylendiamin und Tris-(2-aminoethyl)-amin sowie die Halogenide Ethylendibromid und Ethylendichlorid. Auch Aminonitrile wie Iminodiacetonitril, 3,3'-Iminodipropionitril und 3-Iminobutyronitril stellen geeignete Ausgangsverbindungen dar. Als besonders vorteilhaft erweist sich deren Verfügbarkeit, denn alle diese Bausteine sind kommerziell in akzeptablen bis großen Mengen erhältlich. Im ersten Teil dieser Arbeit sollten zunächst die verzweigten Amine **1-3** synthetisiert werden. Um später als Vorläufer für intramolekular stabilisierte NONOate zu dienen, müssen alle Amine mindestens eine sekundäre Aminfunktion

tragen. Die angestrebte Stabilität hingegen soll mithilfe der Verzweigungen erzielt werden.



Die aus der Literatur bekannten NONOate vom Typ **4** und **5** mit $R = R' = \text{Me}$, Et und $i\text{Pr}$ deuten darauf hin, dass mit Zunahme der Länge der Alkylkette (Lipophilie) auch eine Zunahme der Halbwertszeit erreicht werden kann. Das Vorhandensein der Alkylgruppen scheint deren Stabilität so zu beeinflussen, dass diese mit Zunahme der Lipophilie einhergeht.^[33]



Aufgrund hydrophober Wechselwirkungen sollten lipophile NONOate eine höhere Affinität zu natürlichen Membranen aufweisen. Idealerweise wären diese nach dem Einbau in die Membran der lokalen pH-Wert-Erniedrigung ($\text{pH} < 7.4$) unmittelbar ausgesetzt, was schließlich zu einer rascheren NO-Freigabe führen würde. Es ist bekannt, dass die Freigabe von NO umso rascher erfolgt, je niedriger der pH-Wert ist.^[32-]

^{34]} Im zweiten Teil dieser Arbeit galt es also herauszufinden, ob mit Zunahme der Lipophilie die Stabilität von NONOaten gesteigert werden kann. Um die Lipophilie gleichermaßen zu steigern, bot sich die Synthese von NONOaten des Typs **4** mit $R = R' = n\text{-Butyl}$, $n\text{-Hexyl}$ und $n\text{-Octyl}$ an. Deren Stabilität sollte anhand eines einfachen Modellsystems wie beispielsweise den Mizellen systematisch untersucht werden. Natriumdodecylsulfat (SDS) schien dafür geeignet. In wässriger Lösung bildet es oberhalb einer Konzentration von 8.2 mM so genannte Mizellen aus, die wiederum mit gelösten Einzelmolekülen im Gleichgewicht stehen.^[57] Hier galt es zu klären, ob und inwieweit SDS (konzentrationsabhängig) den Zerfall der NONOate in Pufferlösung beschleunigt.

3 Versuche zur Darstellung der hydrophilen Polyamine

3.1 Michael - Addition und Reduktion I: Versuche zur Darstellung von N^1 -[2-(5-Amino-2-aminomethyl-pentylamino)-ethyl]-2-aminomethyl-pentan-1,5-diamin (**1**)

Versuche zur Darstellung von N^1 -[2-(5-Amino-2-aminomethyl-pentylamino)-ethyl]-2-aminomethyl-pentan-1,5-diamin (**1**) erfolgten auf divergentem Wege über drei Stufen. Der Dimerisierung von Acrylnitril (**6**) zum α -Methyldimer **7** folgte die Addition von Ethylendiamin zum symmetrischen Tetranitril **8**. Durch Reduktion mit Rhodium auf Aluminiumoxid ($\text{Rh}/\text{Al}_2\text{O}_3$), Diisobutylaluminiumhydrid (**DIBAH**) und Lithiumaluminiumhydrid (LiAlH_4) wurde versucht, das Polyamin **1** zu erhalten. Der vollständige Syntheseweg ist in Abb.11 dargestellt. Auf dem Reaktionspfeil sind die experimentellen Ausbeuten aufgeführt, während in Klammern darunter die entsprechenden Literaturwerte zu finden sind.

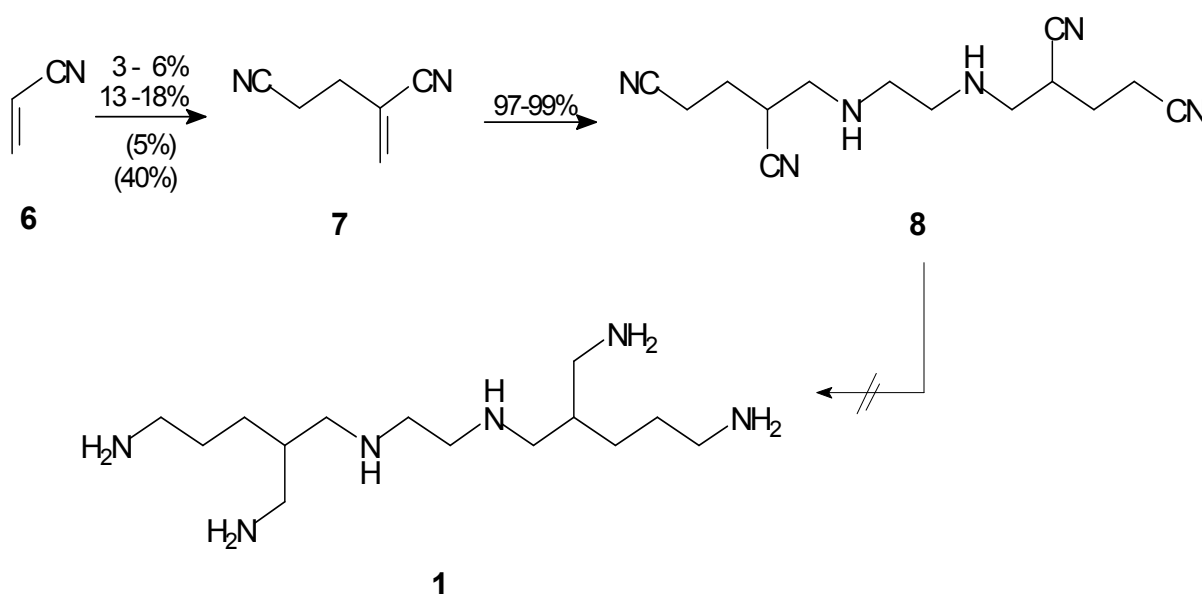
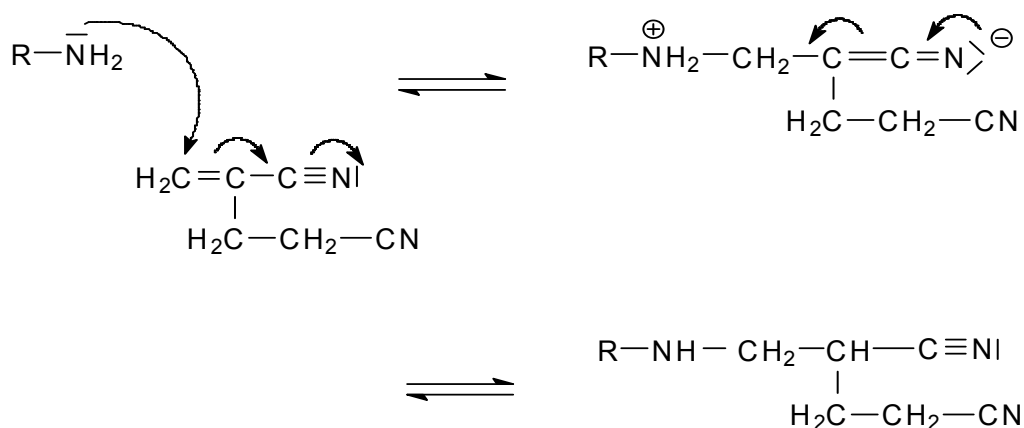


Abb.11: Vollständiger Syntheseweg zur Darstellung von N^1 -[2-(5-Amino-2-aminomethyl-pentylamino)-ethyl]-2-aminomethyl-pentan-1,5-diamin (**1**). Versuche zur Synthese von **1** erfolgten auf divergentem Wege über drei Stufen.

Zur Darstellung von 2-Methylglutarsäuredinitril (**7**) wurden zwei Methoden ausgewählt, einmal die Methode von BAIZER und ANDERSON^[62] aus dem Jahre 1965 sowie die Variante von BASAVIAH, GOWRISWARI und BHARATH^[63] von 1987. Die Oligomerisierung von Acrylnitril (**6**) mittels Tri-*n*-butylphosphin wurde in den 1960er Jahren von BAIZER und ANDERSON zum ersten Mal beschrieben und mechanistisch

untersucht^[62]. Dabei erhielten sie neben dem Trimeren und Oligomeren das α -Methyldimer **7** in 5 proz. Ausbeute. Die Reaktion erfolgte in Acetonitril als Lösungsmittel und erforderte die Anwesenheit eines protischen Solvens wie *tert*-Butanol. Zur Darstellung von **7** wurde die Literaturvorschrift weitgehend beibehalten. Die Ansatzgrößen konnten sogar vervierfacht werden, ohne dass die Ausbeuten dadurch geringer ausfielen. Sämtliche Ausbeuten lagen erwartungsgemäß zwischen 5 und 6%. Während der Aufarbeitungsphase wurde auf das sehr giftige und cancerogen wirkende Benzol verzichtet. Zum Extrahieren wurde stattdessen das unbedenklichere Chloroform verwendet. Die zweite Variante zur Darstellung von **7** stammt aus dem Jahre 1987, bei der die Dimersierung von Acrylnitril in Gegenwart von 1,4-Diazbicyclo[2.2.2]octan (DABCO) erfolgt^[63]. Der Literaturvorschrift zufolge wurde die Base (50 mol%) als Suspension in Acrylnitril zehn Tage bei 35 - 40 °C gerührt. Da in der Vorschrift von BASAVAIAH, GOWRISWARI und BHARATHI keine Angaben über die Ansatzgrößen gemacht werden, wurden zur Darstellung von **7** ähnlich große Mengen an Acrylnitril (**6**) eingesetzt wie in der ersten Variante. Das Stoffmengenverhältnis von **6** zu DABCO lag für alle Ansätze bei 2:1. Während der Umsetzung bildete sich ein harzartiger Feststoff, so dass in der Aufbereitungsphase mehrmals mit heißem Chloroform extrahiert werden musste. Im Vergleich zur Literatur (40%) fielen die Ausbeuten wesentlich geringer aus, und lagen im Bereich zwischen 13 und 18%. Die Methode wurde dennoch bevorzugt angewandt, da sämtliche Edukte kostengünstig und leicht zugänglich waren.

Der Synthese von 4-Cyano-5-[2-(2,4-dicyano-butylamino)-ethylamino]-pentannitril (**8**) liegt ebenfalls der Mechanismus der 1,4-Addition zugrunde. Ebenso wie bei Acrylnitril (**6**) steht auch im α -Methyldimer **7** die Doppelbindung in α,β -Stellung zur Cyanogruppe, weshalb das β -Kohlenstoffatom der Doppelbindung von Nukleophilen leicht angegriffen werden kann.



Zur Darstellung von **8** wurden Mischungen aus 2-Methylenglutarsäuredinitril (**7**) und Ethylendiamin im Stoffmengenverhältnis 2:1 bei 70 – 80 °C gerührt. Nach vier Tagen waren die Umsetzungen vollständig, was mithilfe von ^1H -NMR-Spektren (200 MHz, CDCl_3) leicht überprüft werden konnte. Das Spektrum von **7** zeigt zwei Singulets zwischen $\delta = 5.8 - 6.2$ ppm. Beide Signale sind gut aufgelöst und liegen weit entfernt von den anderen Signalen, so dass der Reaktionsverlauf über die Abnahme der Signalintensitäten leicht verfolgt werden konnte. Die Temperatur wurde mit 70 – 80 °C nicht zu hoch gewählt, um einen Überdruck im dicht verschlossenen Reaktionskolben zu vermeiden. Vorversuche bei Raumtemperatur führten auch nach Tagen zu keinem merklichen Umsatz.

Nitrile können anhand der $\text{C}\equiv\text{N}$ -Valenzschwingung leicht identifiziert werden, denn im IR-Spektrum erscheint die Absorptionsbande oftmals deutlich im Bereich zwischen $2260\text{--}2200\text{ cm}^{-1}$.^[64,65] Das Tetranitril **8** zeigt ebenfalls sehr deutlich die für Nitrile typische Absorption bei 2244 cm^{-1} . Die Absorptionsbande kann dazu verwendet werden, den Fortgang einer Hydrierung zu beobachten, denn Im Verlaufe einer Hydrierung sollte die Intensität der $\text{C}\equiv\text{N}$ -Bande zunehmend geringer werden. Es wurden verschiedene Methoden ausgewählt, um das Aminonitril **8** in das entsprechende Polyamin **1** zu überführen. Versuche zur Hydrierung erfolgten mit

- Rhodium auf Aluminiumoxid (**Rh/Al₂O₃**, 5% Belegung) in ammoniakalischer Ethanollösung (10%ig),
- Diisobutylaluminiumhydrid (**DIBAH**) in trockenem Hexan/THF,
- sowie mit Lithiumaluminiumhydrid (**LiAlH₄**) in trockenem THF.

Ein mildes Verfahren zur Reduktion von Nitrilen stammt von FREIFELDER aus dem Jahre 1959, bei dem verschiedene aliphatische Nitrilverbindungen mithilfe von **Rh/Al₂O₃** in die entsprechenden primären Amine überführt werden konnten^[66]. Die Hydrierungen wurden allesamt unter milden Reaktionsbedingungen durchgeführt, das heißt, bei Raumtemperatur und einem Wasserstoffdruck von nur $2\text{--}3\cdot 10^5$ Pa. Da unter diesen Bedingungen auch sekundäre Amine gebildet werden, mussten die Reaktionen in ammoniakalischer Ethanollösung (10%ig) durchgeführt werden. Gegenüber dem Nitril wurde stets ein fünffacher Überschuss an Ammoniak verwendet, so dass keine nennenswerten Nebenprodukte auftraten. Versuche zur Hydrierung von **8** wurden

anschließend unter ähnlichen Bedingungen durchgeführt. Die Herstellung der Ethanollösungen erfolgte in Gaswaschflaschen bei 0°C. Ammoniakgas wurde bei dieser Temperatur über eine Fritte durch das trockene Lösungsmittel geleitet, und über die Massenzunahme konnte der Gehalt an Ammoniak rasch ermittelt werden. Je nach Ansatz variierte der Gehalt zwischen 10 und 13 %. Vier Ansätze zur Hydrierung wurden insgesamt durchgeführt, drei Versuche bei niedrigen Drucken zwischen 3 und $10 \cdot 10^5$ Pa sowie ein Ansatz bei 10^7 Pa. Alle Versuche verliefen über einen Zeitraum von zweieinhalb Tagen, während der Ansatz bei 10^7 Pa aus Sicherheitsgründen schon nach einer halben Stunde abgebrochen werden musste. Um festzustellen, ob die Hydrierungen erfolgreich verliefen, wurden die Rückstände nach der Aufarbeitung jeweils IR-spektroskopisch untersucht. In allen Fällen zeigte sich, dass das Aminotril **8** nicht vollständig hydriert wurde. Alle Spektren zeigten noch die für Nitrile charakteristische Absorption im Bereich zwischen 2240 und 2245 cm^{-1} . Das untere Spektrum in Abb. 12 zeigt dies an einem Beispiel. Im Bereich der CH-Valenzschwingungen erkennt man insgesamt drei Absorptionsbanden bei 2968, 2932 und 2861 cm^{-1} . Im Vergleich zum Eduktspektrum sind die Intensitäten dieser Banden jedoch wesentlich höher als die der CN-Bande bei 2242 cm^{-1} . Vermutlich liegt ein Produktgemisch vor.

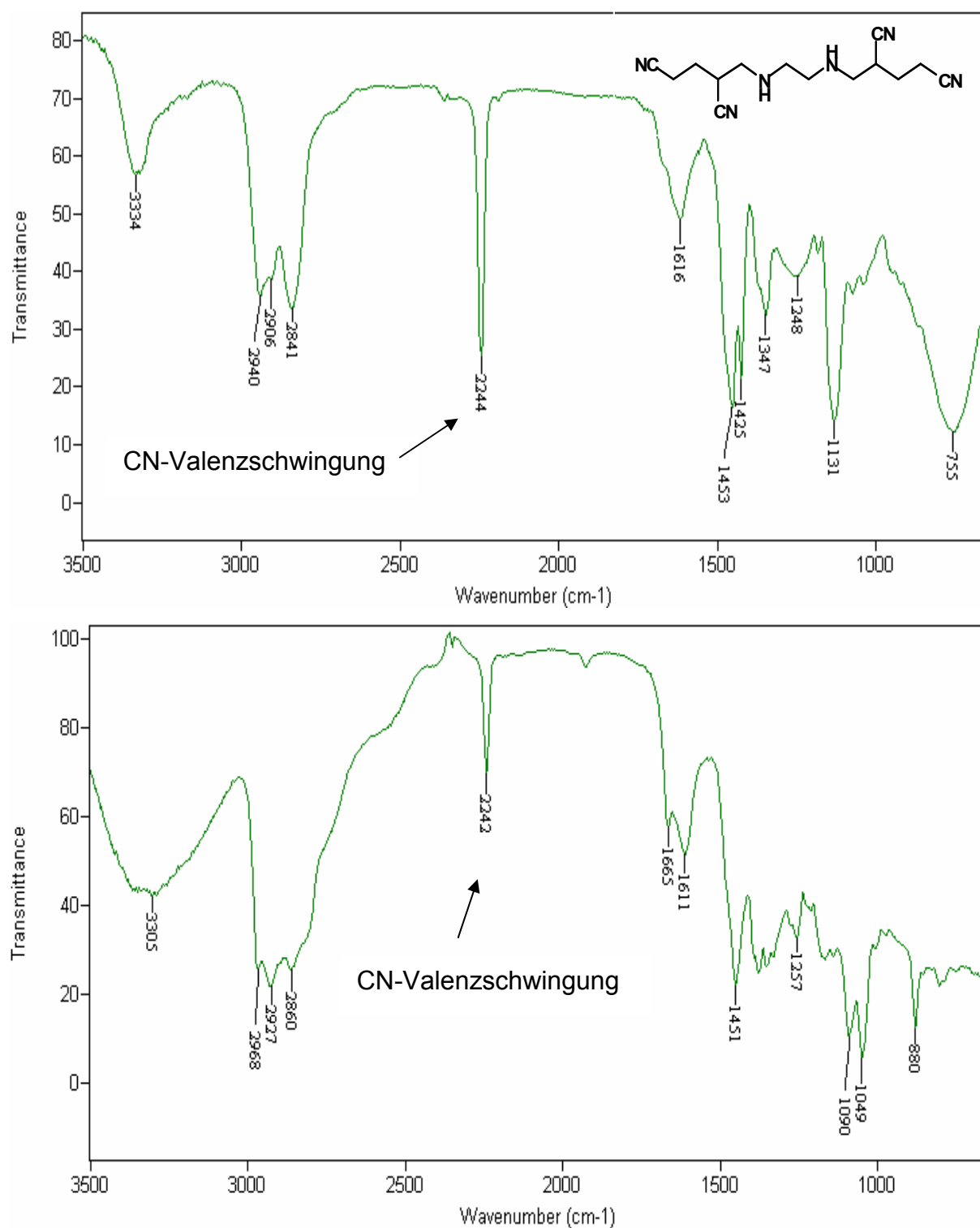


Abb. 12: IR-Spektrum von 4-Cyano-5-[2-(2,4-dicyano-butylamino)-ethylamino]-pentannitril (**8**) (oben). Das Spektrum zeigt deutlich die CN-Valenzschwingung bei 2244 cm⁻¹. IR-Spektrum

nach den Reduktionversuchen mit **Rh**/**Al₂O₃** (5% Belegung). Die Aufnahme der Spektren erfolgte in beiden Fällen als Film.

Der systematische Aufbau dendritischer Polyamine wurde von VÖGTLE et al. in den Jahren 1978 und 1993 ausführlich beschrieben.^[67,68] Über die bewährte Michael-Addition von Acrylnitril an Amine wurde zunächst eine große Anzahl von Polynitrilen erhalten, die in einem darauf folgenden Schritt durch Reduktion mit Natriumborhydrid in die entsprechenden Amine überführt werden konnten.^[67] Als vorteilhaft gegenüber dieser Methode erwies sich 15 Jahre später Diisobutylaluminiumhydrid, da das Verfahren weniger aufwendig war und zudem auch höhere Ausbeuten lieferte.^[68] Aufgrund dieser Vorteile wurde schließlich versucht, auch das Aminonitril **8** in das gewünschte Amin **1** zu überführen. Die Vorgehensweise entsprach im Wesentlichen der aus der Literatur. Das in Hexan gelöste Reduktionsmittel (1M) wurde zur Lösung des Michael-Adduktes **8** in THF getropft und anschließend unter Rückfluss zum Sieden erhitzt. Die Reaktionszeit musste von 21 Stunden im ersten Ansatz auf über 40 Stunden in den darauf folgenden Ansätzen erhöht werden, da die Hydrierung im ersten Versuch nur unvollständig verlaufen war. Das nach der Aufarbeitung isolierte Öl wurde IR-spektroskopisch untersucht, und es zeigte immer noch die für Nitrile charakteristische Absorption bei 2250 cm⁻¹. Zusätzlich zur Verdopplung der Reaktionszeit wurde auch die Menge an **DIBAH** erhöht, so dass das Reduktionsmittel gegenüber dem Aminonitril **8** in zwanzigfachem Überschuss vorlag. Nach der Aufbereitung wiesen alle IR-Spektren auf eine vollständige Hydrierung hin. (vgl. Abb. 13), denn alle Spektren zeigten eindeutig die Abwesenheit der Nitrilfunktion. Das Spektrum zeigt drei intensive Absorptionsbanden im Bereich zwischen 3180 und 3360 cm⁻¹, die der NH-Valenzschwingung zugeordnet werden können und charakteristisch für Amine sind. Für primäre Amine erwartet man zwei Banden in diesem Bereich, die symmetrische und unsymmetrische Valenzschwingung. Sekundäre Amine hingegen zeigen deutlich schwächere Absorptionen. Zudem zeigt das Spektrum deutlich die für NH-Deformationsschwingungen charakteristische Bande bei 1615 cm⁻¹. Daneben findet man eine weitere Bande mittlerer Intensität bei 1454 cm⁻¹, die eindeutig auf CH-Deformations-schwingungen zurückgeführt werden kann.^[64,65]

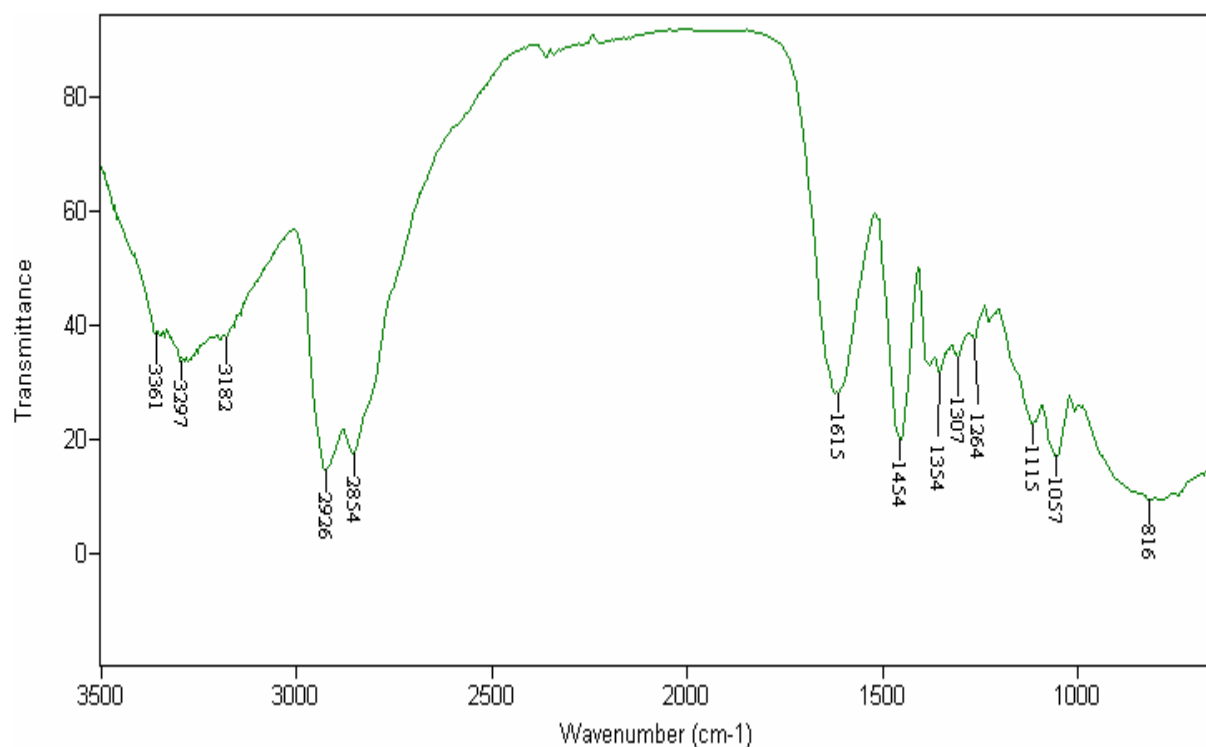


Abb. 13: IR-Spektrum des Rohproduktes (Film) nach der Reduktion mit **DIBAL**. Das Reduktionsmittel lag gegenüber dem Aminonitril **8** in zwanzigfachem Überschuss vor. Die Reaktionszeit musste von 21 Stunden im ersten Versuch auf insgesamt 40 Stunden in den darauf folgenden Ansätzen verdoppelt werden.

Es folgten ^1H -NMR- und ^{13}C -NMR-spektroskopische Untersuchungen. Das ^1H -NMR-Spektrum (500 MHz) in D_2O zeigte eine sehr große Anzahl von Signalen im Bereich zwischen 0.5 - 3.5 ppm. Ebenso viele Signale wurden auch im ^{13}C -NMR-Spektrum (125 MHz) zwischen 10 - 85 ppm gefunden. Aufgrund der Symmetrie von **1** würde man im ^{13}C -NMR-Spektrum insgesamt nur sieben Signale erwarten. Anhand der ^1H -NMR- und ^{13}C -NMR-spektroskopischen Daten konnte das Amin **1** also nicht identifiziert werden. Das Rohprodukt wurde daraufhin weiter aufbereitet und wiederholt spektroskopisch untersucht. Nach Lösen in stark alkalischer Natriumhydroxid-Lösung (> 40 proz.) konnte zunächst eine gelb gefärbte, ölige Phase erhalten werden, die nach Extrahieren mit Acetonitril und Trocknen über Magnesiumsulfat nochmals ^1H -NMR- und ^{13}C -NMR-spektroskopisch untersucht worden war. Die Spektren zeigten zwar in beiden Fällen deutlich weniger Signale, dennoch kam man zu einem ähnlichen Ergebnis. So zeigt das

^{13}C -NMR-Spektrum in 4.61 M NaOD in D_2O im Vergleich zur Aufnahme in reinem D_2O immer noch zu viele Signale. Wenigstens in stark alkalischer Lösung sollte das Amin **1** vollständig deprotoniert sein, so dass im ^{13}C -NMR-Spektrum auch nur 7 Signale zu erwarten wären. Eine Identifizierung von **1** war jedoch aufgrund der Vielfalt an Signalen auch hier nicht möglich. Abb. 14 zeigt zudem, dass sich beide Spektren nicht wesentlich voneinander unterscheiden. Unterschiedlich protonierte Formen von **1** scheinen hierbei keine Rolle zu spielen.

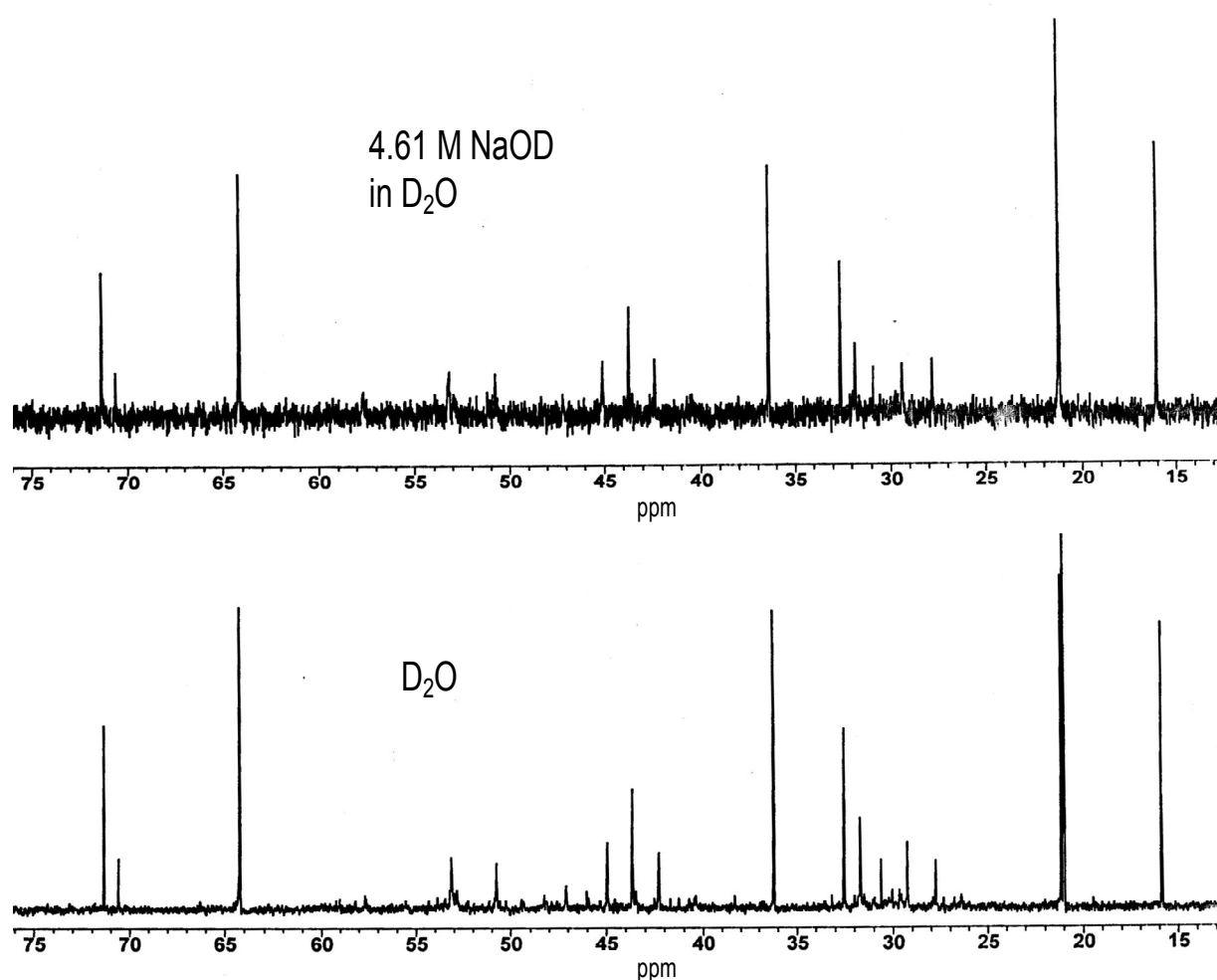
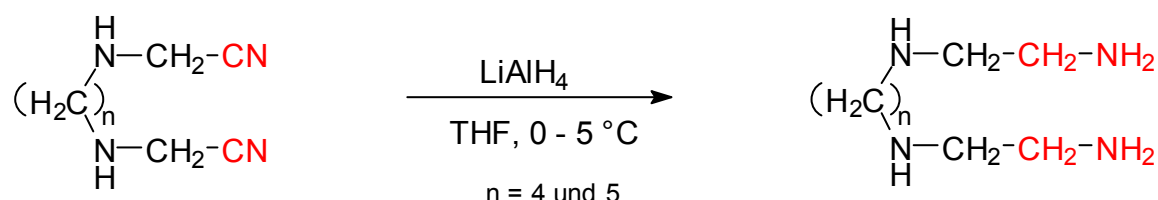


Abb. 14: Vergleich der ^{13}C -NMR-Spektren in D_2O und NaOD in D_2O (4.61 M). Aufgrund der Symmetrie von **1** würde man insgesamt nur sieben Signale erwarten. Die Spektren zeigen immer noch zu viele Signale, so dass das Amin **1** nicht identifiziert werden kann.

Alle Versuche mit Wasserstoff und $\text{Rh}/\text{Al}_2\text{O}_3$ als Katalysator sowie die Hydrierungen mit Diisobutylaluminiumhydrid (**DIBAH**) führten zu keinem Erfolg: die katalytischen Hydrierungen verliefen allesamt unvollständig, während bei der Umsetzung mit **DIBAH** das Amin **1** nicht identifiziert werden konnte. Als nächstes wurde schließlich auf das stärkere und weniger selektiv wirkende Lithiumaluminiumhydrid (LiAlH_4)

zurückgegriffen, und entsprechend einer Vorschrift von ANDEREGG und BLAEUENSTEIN aus dem Jahre 1982 wurde versucht, das Aminonitril **8** mithilfe von LiAlH_4 in das verzweigte Polyamin **1** zu überführen. Unter recht milden Reaktionsbedingungen gelang ihnen zu Beginn der 1980er Jahre die Reduktion der im unteren Schema gezeigten Aminonitrilverbindungen.^[69]



Bei Lithiumaluminiumhydrid handelt es sich um ein sehr starkes Reduktionsmittel. Versuche zur Hydrierung von **8** wurden vorsichtshalber unter Schutzgas bei einer Temperatur von 0 - 5 °C durchgeführt. Als Lösungsmittel diente trockenes Tetrahydrofuran, und Lithiumaluminiumhydrid lag gegenüber der Nitrilverbindung **8** in dreizehnfachem Überschuss vor. Die Durchführung erfolgte stets so, dass eine Lösung des Nitrils **8** langsam zu einer Suspension von LiAlH_4 in THF getropft wurde. Die Reaktion verlief exotherm, so dass während der Zugabe mit einer Kältemischung (Eis/Kochsalz) gekühlt werden musste. Als Reaktionsprodukt wurde in allen Fällen ein gelb gefärbtes Öl erhalten. Bezogen auf das gewünschte Amin **1** lagen die Ausbeuten im Bereich zwischen 50 und 80%. Bei der anschließenden IR-spektroskopischen Untersuchung zeigte sich in allen Fällen, dass die Hydrierungen vollständig verlaufen waren (vgl. Abb. 16). Das Spektrum zeigt drei charakteristische Absorptionen im Bereich zwischen 3160 – 3360 cm^{-1} . Eine davon erscheint als Bande mittlerer Intensität bei 3261 cm^{-1} , während zwei weitere in diesem Bereich als Schulter erscheinen. Absorptionen in diesem Bereich sind typisch für Amine und können NH-Valenzschwingungen zugeordnet werden. Das Spektrum zeigt außerdem mehrere charakteristische Banden unterhalb 3000 cm^{-1} sowie eine weitere Bande mittlerer Intensität bei 1454 cm^{-1} , die zusammen für CH-Valenz- und Deformationsschwingungen charakteristisch sind. Eine breite Bande findet man bei 1632 cm^{-1} , die auf NH-Deformationsschwingungen zurückgeführt werden kann.^[64,65]

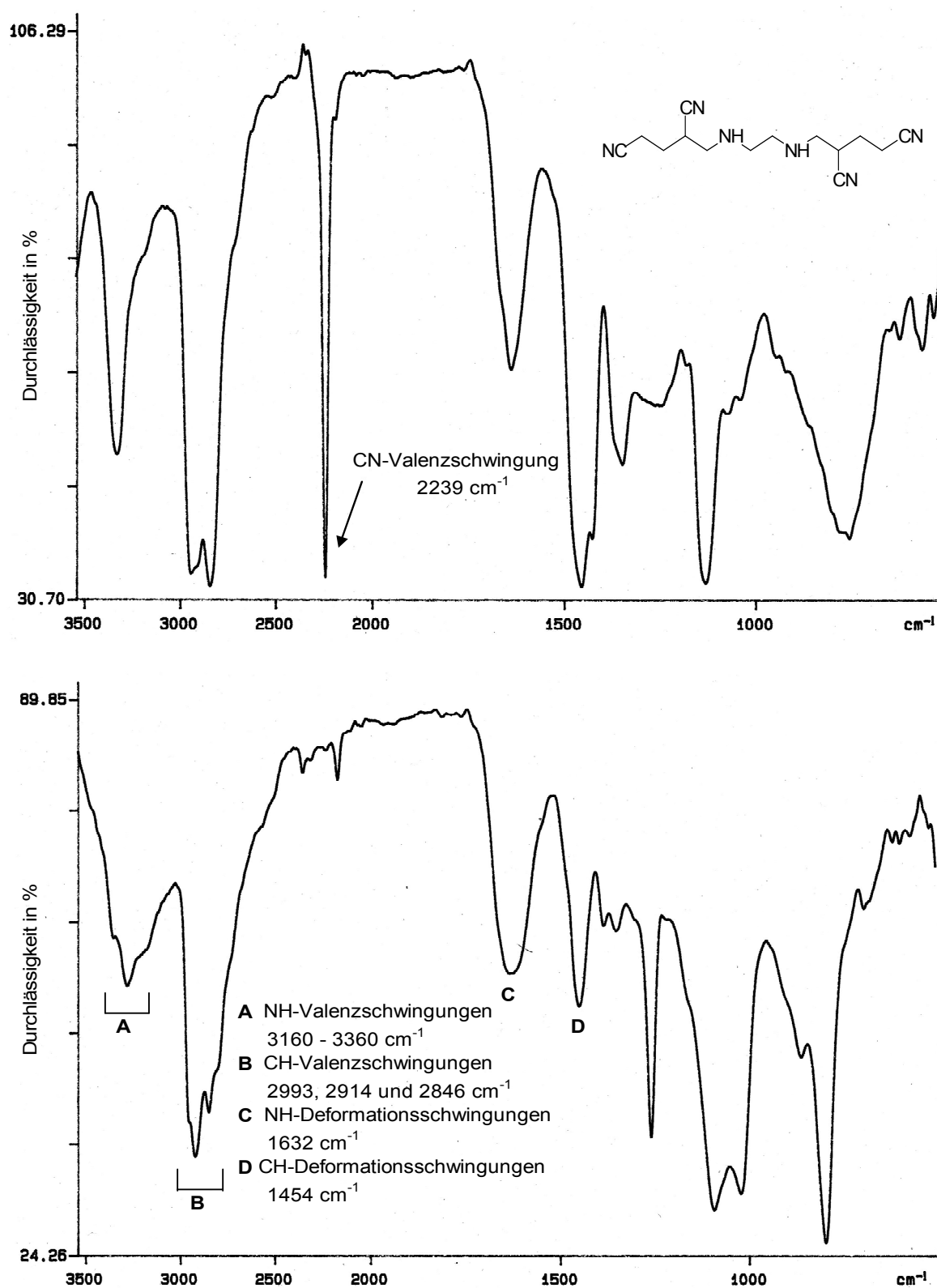


Abb. 15: IR-Spektrum von **8** (oben) und dem Rohprodukt (unten) nach der Reduktion mit LiAlH_4 . Die Hydrierung verlief bereits bei einer Temperatur von 0°C vollständig. Das untere

Spektrum zeigt eindeutig die Abwesenheit der CN-Valenzschwingung. Die Aufnahmen erfolgten als Film.

Um das Polyamin **1** identifizieren zu können, folgten verschiedene massenspektroskopische Untersuchungen. Da es sich bei dem Rohprodukt um ein viskoses Öl handelte, wurden FAB (Fast-Atom Bombardment) und ESI (Elektrospray-Ionisation) als Ionisierungsmethoden ausgewählt. Beide Methoden werden angewandt, wenn es um die Messung polarer Substanzen geht. Mehrfach geladene Ionen und hochmolekulare Substanzen werden heutzutage auf diese Art und Weise identifiziert. Zudem eignen sich beide Methoden zur Charakterisierung von schwer oder nicht verdampfbareren Substanzen. Als Nachteil hat sich in beiden Fällen die begrenzte Anzahl an Lösungsmitteln erwiesen. Für FAB-Messungen sind nur sehr wenige Lösungsmittel wie Glyzerin und 3-Nitrobenzylalkohol geeignet, während ESI-Messungen in wenigen polaren Lösungsmitteln wie Methanol, Wasser und Acetonitril sowie in Gemischen davon durchgeführt werden.^[64] VÖGTLE et al. konnte mithilfe von FAB-Analysen zu Beginn der 1990er Jahre eine Reihe von Dendrimeren auf der Basis von Polynitrilen und Polyaminen eindeutig nachweisen.^[68] Da die Strukturen der Dendrimere Ähnlichkeiten zum Polyamin **1** zeigten, schienen FAB- und ESI-Messungen besonders geeignet zu sein.

Für die FAB-Analyse wurde das Rohöl in möglichst hoher Konzentration in wenig 3-Nitrobenzylalkohol gelöst, während für die ESI-Analyse eine 10 µM Lösung (Konz. bezogen auf **1**) in Wasser verwendet wurde. Die Spektren, die für das Rohöl jeweils aufgenommen wurden, sind in beiden Fällen wenig aussagekräftig. Das Signal, welches für das Molekül-Ion $[M+H]^+$ bei $m/z = 289$ zu erwarten war, ist in beiden Fällen von sehr geringer Intensität. Gleiches gilt für das Molekül-Ion $[M+Na]^+$ bei $m/z = 311$. Das FAB-Spektrum zeigt eine sehr große Anzahl intensiver Signale unterhalb $m/z = 300$, während das ESI-Spektrum durch ein sehr intensives Signal bei $m/z = 270$ sowie weiteren, weniger intensiven Peaks bei $m/z = 185, 301, 369, 406, 458$ und 520 gekennzeichnet ist. Anhand beider Massenspektren konnte das Polyamin **1** nicht eindeutig identifiziert werden.

3.2 Michael - Addition und Reduktion II: Versuche zur Darstellung von *N,N*-Bis-(3-amino-propyl)-*N'*-{3-[bis-(3-amino-propyl)-amino]-propyl}-propan-1,3-diamin (**2**)

Bei der Darstellung von Polyaminen hat sich die Cyanethylierung besonders bewährt, denn durch Addition von Acrylnitril an Amine kann die Zahl der Funktionalitäten systematisch erhöht werden. Eine darauf folgende Reduktion zum Amin ermöglicht sodann die weitere Addition von Acrylnitril. Mit jedem durchlaufenen Prozess von Addition und Reduktion wird insgesamt eine Verdopplung der Funktionalitäten erreicht. Zur Darstellung von **2** wurde die Synthesestrategie von VÖGTLE et al. aus dem Jahre 1978 übernommen.^[67] So konnten mit Hilfe der iterativen Sequenz von Michael-Addition und Reduktion insgesamt vier zusätzliche primäre Aminfunktionen geschaffen werden.

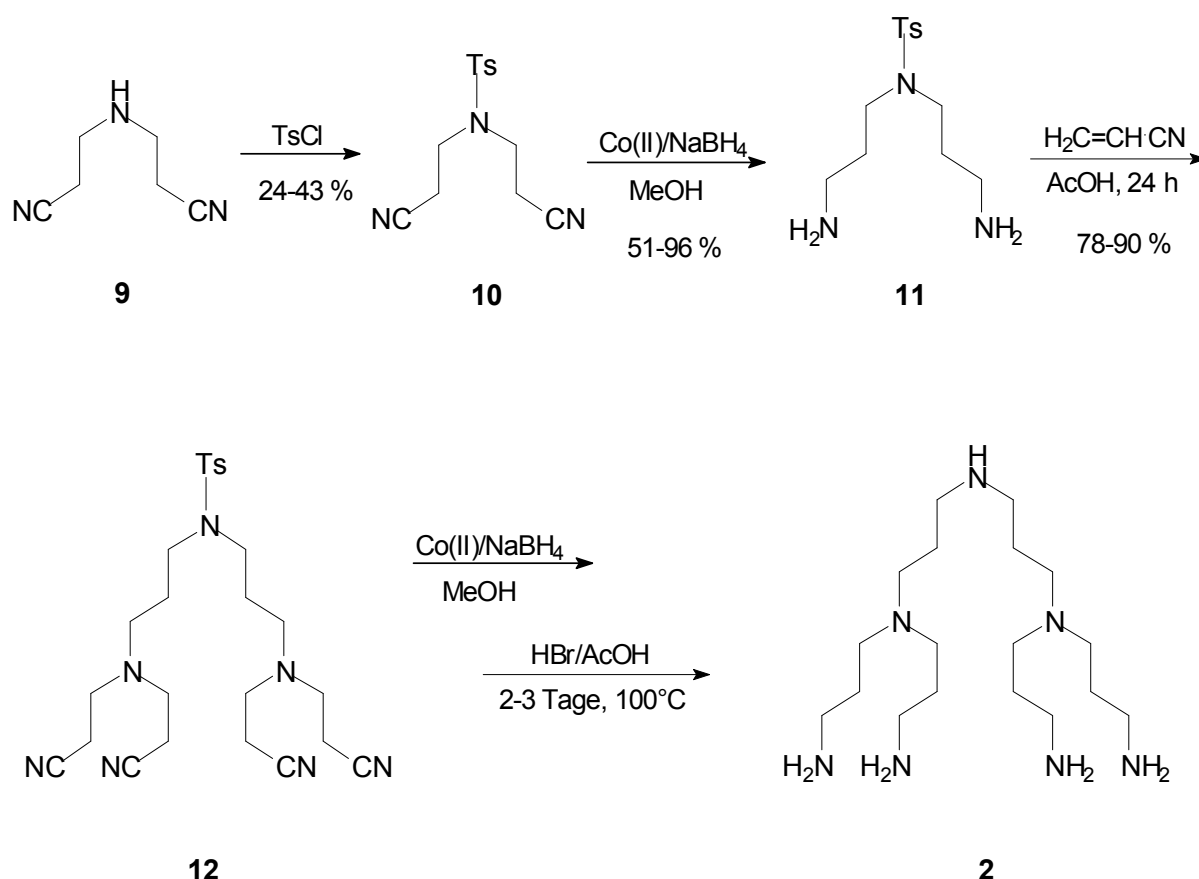


Abb.16: Vollständiger Syntheseweg zur Darstellung von *N,N*-Bis-(3-amino-propyl)-*N'*-{3-[bis-(3-amino-propyl)-amino]-propyl}-propan-1,3-diamin (**2**). Die Darstellung erfolgte auf divergentem Wege über sechs Stufen. Unter den Reaktionspfeilen sind die experimentellen Ausbeuten aufgeführt worden. (Ts = Tosyl).

Als Initiator bot sich 3,3'-Iminodipropionitril (**9**) an, da es über die notwendige sekundäre Aminogruppe verfügt. Ausgehend von **9** wurde im ersten Schritt zunächst das Tosylamid **10** in 43 proz. Ausbeute synthetisiert. Die Einführung der Schutzgruppe war notwendig, um bei der Cyanethylierung die Addition von Acrylnitril an die sekundäre Aminfunktion zu verhindern. Reduktion mit Natriumborhydrid in Gegenwart von Cobalt(II)-chlorid-Hexahydrat lieferte in nahezu quantitativer Ausbeute das Diamin **11**. Durch Umsetzung mit Acrylnitril in Eisessig konnte schließlich das verzweigte Tetranitril **12** mit einer Ausbeute von 90 % erhalten werden. Erneute Reduktion und Entfernung der Schutzgruppe mit Bromwasserstoff (48 proz.) und Eisessig lieferte in Vorversuchen das Polyamin **2**.

Die Darstellung von **10** erfolgte in einem Zweiphasengemisch aus Diethylether und Wasser. Nach Zugabe aller Reagenzien wurde der Ether destillativ aus dem Reaktionsgemisch entfernt, wobei das Tosylamid **10** in 43 proz. Ausbeute als farbloser Niederschlag ausfiel. Als Base wurde Natriumhydroxid verwendet. Aufgrund der einfachen Durchführung konnten an einem Tag bis zu 50 g Produkt problemlos synthetisiert werden, welches ohne zusätzliche Aufarbeitung weiter eingesetzt werden konnte. Das ^1H -NMR-Spektrum von **9** zeigte keine signifikanten Verunreinigungen. Bei größeren Verunreinigungen konnte der Feststoff gegebenenfalls aus Ethanol umkristallisiert werden.

Als Reduktionsmittel ist Natriumborhydrid nicht stark genug, um Nitrile, Amide und Nitroverbindungen in die entsprechenden primären Amine zu überführen. Die Reduktion gelingt jedoch in Gegenwart einiger Halogenide wie Cobalt(II), Nickel(II), Kupfer(II) und Rhodium(III). Das Reduktionsvermögen nimmt derart zu, dass die Amine sogar bei Raumtemperatur in recht akzeptablen bis hohen Ausbeuten erhalten werden. Gegen Ende der 1960er Jahre untersuchten zwei japanische Arbeitsgruppen zum ersten Male die Kombination aus Natriumborhydrid und Cobalt(II)-chlorid. Ihnen gelang es, eine ganze Reihe von Nitrilen, Amiden und Nitroverbindungen zu reduzieren, und das sowohl in protischen (Methanol) als auch aprotischen (Dioxan) Lösungsmitteln.^[70] HEINZMANN und GANEM konnten 1982 zeigen, dass es sich dabei um einen heterogen, katalysierten Prozess handelt, bei dem festes Cobaltborid (Co_2B) gebildet wird und als Suspension im Reaktionsgemisch vorliegt. Der Feststoff entsteht in methanolischer Lösung direkt nach Zugabe von Natriumborhydrid zum Cobalt(II)-chlorid, und unter gleichzeitiger

Freisetzung von Wasserstoff fällt der schwarz gefärbte Niederschlag aus. Durch Koordination von Wasserstoff auf der Oberfläche kommt es zur Aktivierung, so dass letztendlich eine Reduktion zum primären Amin erfolgen kann.^[71] Die Darstellung von **11** erfolgte in der gleichen Weise durch Natriumborhydrid und Cobalt(II)-chlorid. Als Lösungsmittel diente wiederum Methanol. Das Reduktionsmittel wurde gegenüber der Nitrilverbindung **10** in vierzigfachem Überschuss eingesetzt, während es gegenüber dem Cobaltsalz in zwanzigfachem Überschuss vorlag. Bei insgesamt vier Ansätzen konnte die Ausbeute von 51 % auf 96 % gesteigert werden.

Die Darstellung dendritischer Amine und Nitrile wurde von VÖGTLE et al. in den Jahren 1978 und 1993 ausführlich beschrieben. Über die Michael-Addition von Acrylnitril an **13** und **15** waren die kaskadenartig aufgebauten Nitrile **14** und **16** zugänglich. Acrylnitril war zugleich Lösungsmittel, so dass an jede primäre Aminfunktion auch zwei Cyanoethyl-Gruppen addiert wurden. Eisessig diente als Katalysator.^[67,68]

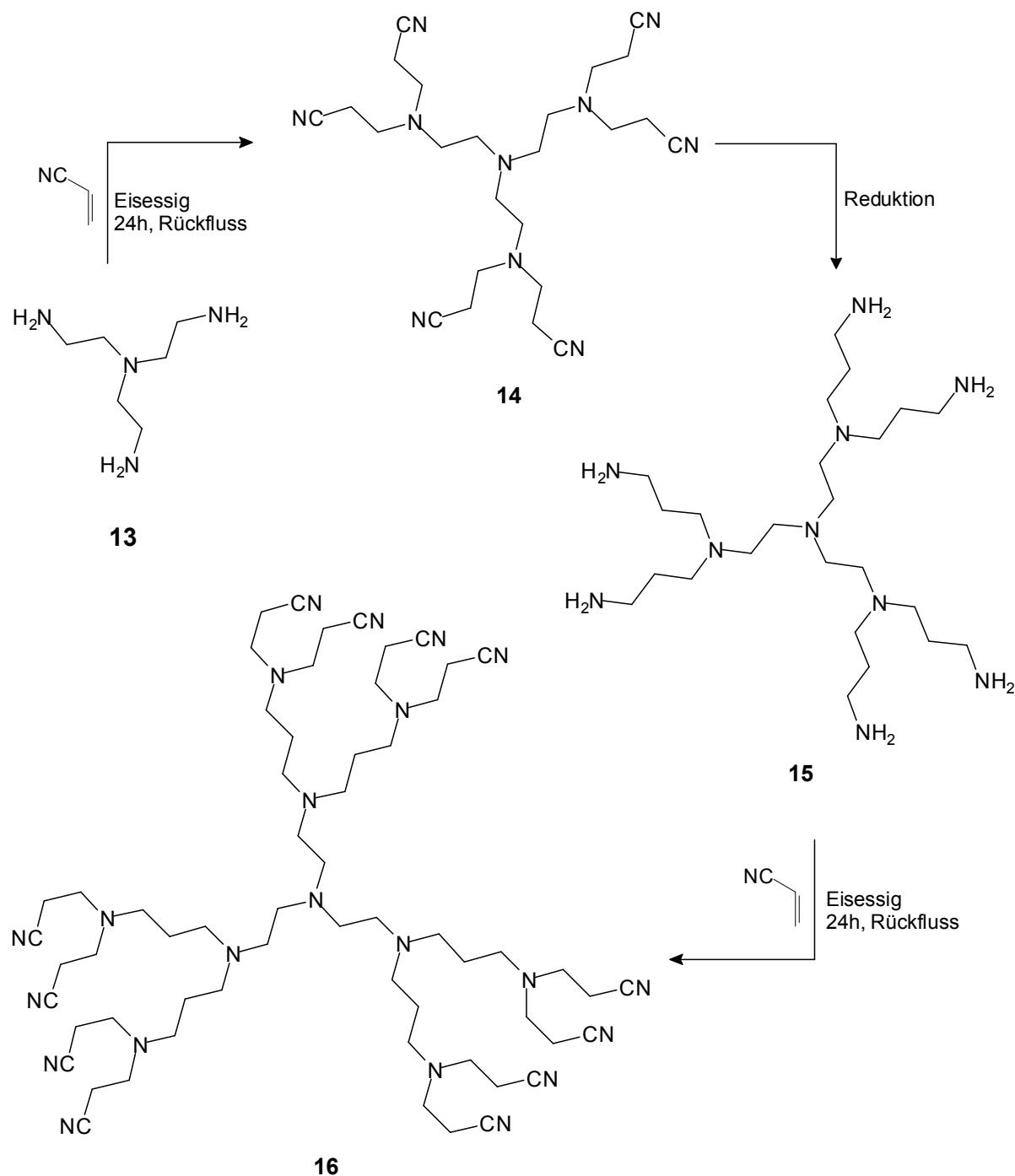


Abb. 17: Synthesesequenz zur Darstellung dendritischer Amine und Nitrile nach VÖGTLE et al. Die Addition von Acrylnitril an die Amine **13** und **15** erfolgte unter essigsaurer Katalyse.^[68]

Das Tetranitril **12** wurde schließlich nach der gleichen Methode erhalten. Acrylnitril diente als Lösungsmittel und Eisessig als Katalysator. Nach der Reaktion konnte das überschüssige Lösungsmittel problemlos entfernt werden, und als Rohprodukt wurde ein braun gefärbtes Öl erhalten. Bei insgesamt vier Ansätzen variierten die Ausbeuten zwischen 78 und 90%.

Die Reduktion von **12** zum primären Amin erfolgte wiederum durch Natriumborhydrid und Cobalt(II)-chlorid. Die Vorgehensweise unterschied sich daher kaum von der der vorangegangenen Versuche. Aufgrund der doppelt so hohen Anzahl an Nitrilfunktionen wurde das Reduktionsmittel gegenüber **12** in achtzigfachem Überschuss eingesetzt. Die Stoffmenge an Cobaltsalz wurde jedoch nicht erhöht und lag auch hier in zwanzigfachem Überschuss gegenüber der Nitrilverbindung **12** vor. Die Ausbeuten variierten bei insgesamt vier Ansätzen zwischen 63 und 93 %. In allen Fällen verlief die Reduktion vollständig, was mit Hilfe von IR-Spektren leicht gezeigt werden konnte. Die für Nitrile charakteristische Absorption war nicht mehr vorhanden. Abb. 18 und 19 zeigen jeweils das Edukt- und das dazugehörige Produktspektrum.

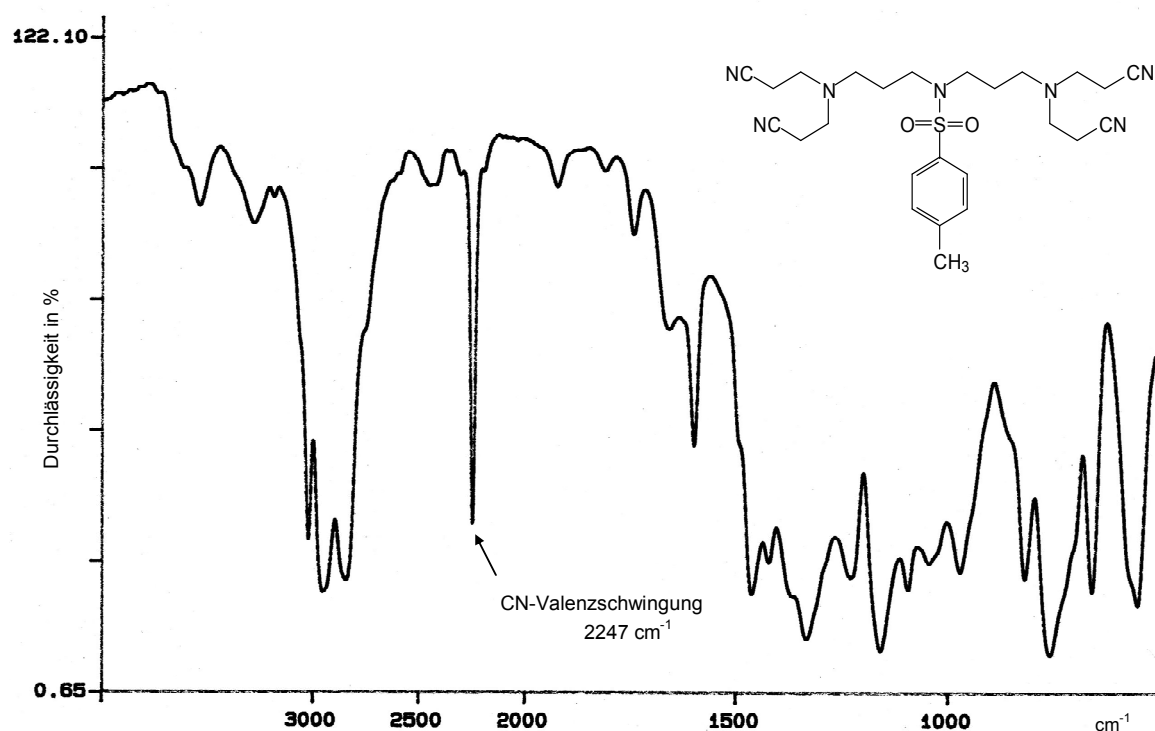


Abb. 18: IR-Spektrum der Tetranitrilverbindung **12** (Film) nach der Cyanethylierung von **11**. Acrylnitril diente zugleich als Lösungsmittel und Eisessig als Katalysator.

Rückstand verblieb ein viskoses Öl, das nach dem Abkühlen auf Raumtemperatur zu einer gelartigen Masse erstarrte. Zur Aufbereitung und Charakterisierung von **2** wurden verschiedene Vorversuche durchgeführt. In zwei Fällen konnte das Amin **2** als freie Base gewonnen werden und anhand ^1H -NMR- und ^{13}C -NMR-spektroskopischer Daten eindeutig identifiziert werden.

Um das Amin **2** zu identifizieren, wurde zunächst versucht, das entsprechende Hydrobromid-Salz zu gewinnen. Das Salz sollte nämlich im Gegensatz zur freien Base als Feststoff vorliegen, so dass dessen Handhabung wesentlich einfacher sein sollte. Dieser Schritt erwies sich jedoch als besonders schwierig, denn das Salz konnte zunächst nicht ausgefällt werden. Das in wenig Bromwasserstoff und Eisessig gelöste Rohöl fiel bei tropfenweiser Zugabe weder in Methanol oder Ethanol noch in Diethylether aus. Erst ein Gemisch aus Ethanol und Diethylether im Verhältnis 3:1 (V:V) führte zum Erfolg. Zur weiteren Identifizierung folgten verschiedene Vorversuche.

Kleine Volumina (5 und 10 mL) der konzentrierten Lösung von **2** in HBr/Eisessig wurden zunächst entnommen, und durch langsames Zutropfen zu einem Lösungsmittelgemisch aus Ethanol (600 mL) und Diethylether (200 mL) wurde das Hydrobromid als feiner, schwach braun gefärbter Niederschlag erhalten. Das Verhältnis aller Komponenten musste sehr genau aufeinander abgestimmt sein, andernfalls fiel nur wenig oder kein Niederschlag aus. Zu viel Lösung (Rohprodukt in HBr/ Eisessig) führte generell zu keinem Niederschlag, so dass stets darauf geachtet werden musste, dass das Lösungsmittel-gemisch aus Ethanol und Diethylether in ausreichender Menge gegenüber der Rohaminlösung vorlag. Zur Isolierung des Hydrobromids musste konsequent unter Schutzgasatmosphäre gearbeitet werden, da der Niederschlag sehr hygroskopisch war. Das Hydrobromid wurde deswegen auch nicht weiter aufbereitet, sondern direkt in die freie Base überführt. Zwei Varianten führten hier zum Erfolg. Einerseits konnte das Amin **2** mittels konzentrierter Ammoniaklösung (25 proz.) freigesetzt werden, im anderen Falle gelang dies durch Versetzen mit 40-50 proz. Natriumhydroxidlösung. Nach der Extraktion mit Chloroform bzw. Methylenchlorid wurde die freie Base in beiden Fällen als viskoses Öl erhalten.

Von dem Rohöl wurden je ein FAB-Spektrum in 3-Nitrobenzylalkohol sowie ein ESI-Spektrum (10 μM in Methanol/Wasser (1:1/V:V) aufgenommen. Auch wenn beide

Spektren durch eine große Anzahl an Signalen gekennzeichnet sind, so ist in beiden Aufnahmen eindeutig das Signal für das Molekül-Ion $[M+H]^+$ bei $m/z = 360$ enthalten. Von der Intensität her ist dieser Peak im ESI-Spektrum deutlicher ausgeprägt als im entsprechenden FAB-Spektrum. Signale für das Molekül-Ion $[M+Na]^+$ bei $m/z = 382$ hingegen sind in beiden Spektren nicht vorhanden. Abb. 20 zeigt das ESI-Massenspektrum von **2** nach der Isolierung als freie Base. Auch wenn keine Aussagen über den Gehalt an **2** im Rohprodukt gemacht werden können, so besteht doch kein Zweifel, dass bei der Detosylierung das Polyamin **2** entstanden ist.

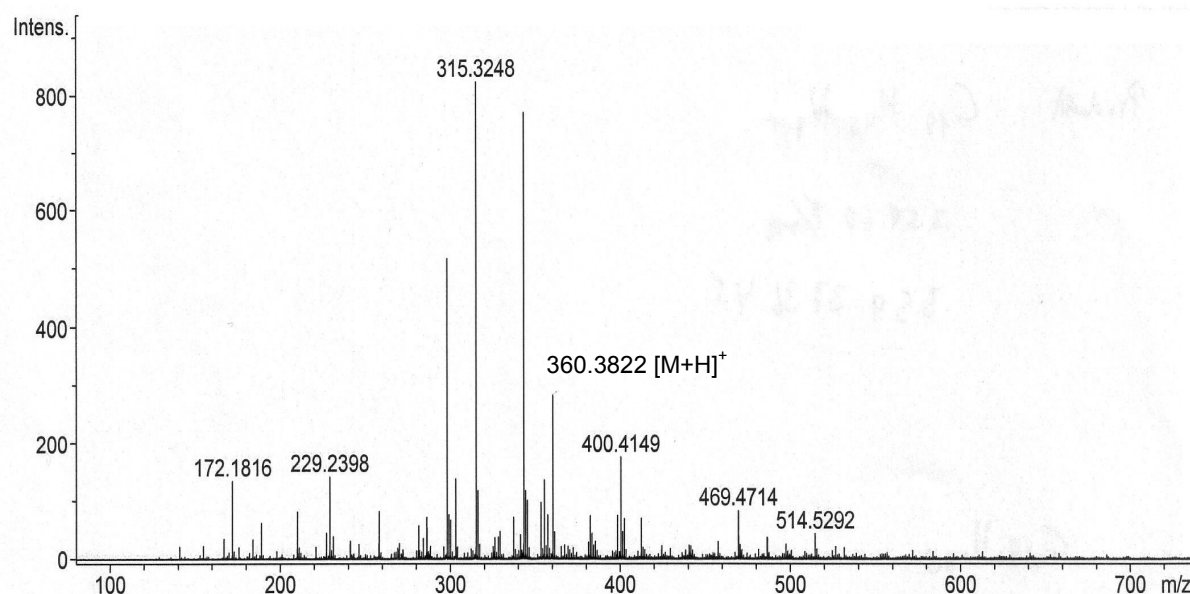


Abb. 20: ESI-Masenspektrum von *N,N*-Bis-(3-amino-propyl)-*N'*-{3-[bis-(3-amino-propyl)-amino]-propyl}-propan-1,3-diamin (**2**). Die Aufnahme des Spektrums erfolgte mit einer 10 μ M Lösung von **2** in Methanol.

Die ^1H -NMR- und ^{13}C -NMR-spektroskopischen Untersuchungen bestätigen das und liefern diesbezüglich weitere Hinweise. So zeigt das ^1H -NMR-Spektrum in D_2O zwei Gruppen von Signalen, ein Multiplett zwischen $\delta = 1.25 - 1.45$ ppm sowie mehrere ineinander verschobene Triplets zwischen $\delta = 2.15 - 2.40$ ppm. Die Signalgruppen sind durch das Intensitätsverhältnis von 1:2 gekennzeichnet. Charakteristisch an der Struktur von **2** sind deren Propylen-Einheiten. Das Multiplett bei hohem Feld kann jeweils den mittleren Methylengruppen in den Propylen-Einheiten zugeordnet werden, wohingegen die anderen Signale von den Methylengruppen herrühren, die in direkter Nachbarschaft zu den Aminogruppen liegen. Dies steht auch in Einklang mit dem gefundenen Intensitätsverhältnis von 1:2. Aus den spektroskopischen Daten geht eindeutig hervor,

dass es sich bei der isolierten Base um *N,N*-Bis-(3-amino-propyl)-*N'*-{3-[bis-(3-amino-propyl)-amino]-propyl}-propan-1,3-diamin (**2**) handelt. Im Spektrum erkennt man zudem zwei weitere Signale, die zeigen, dass in der Probe noch Reste von Ethanol enthalten waren.

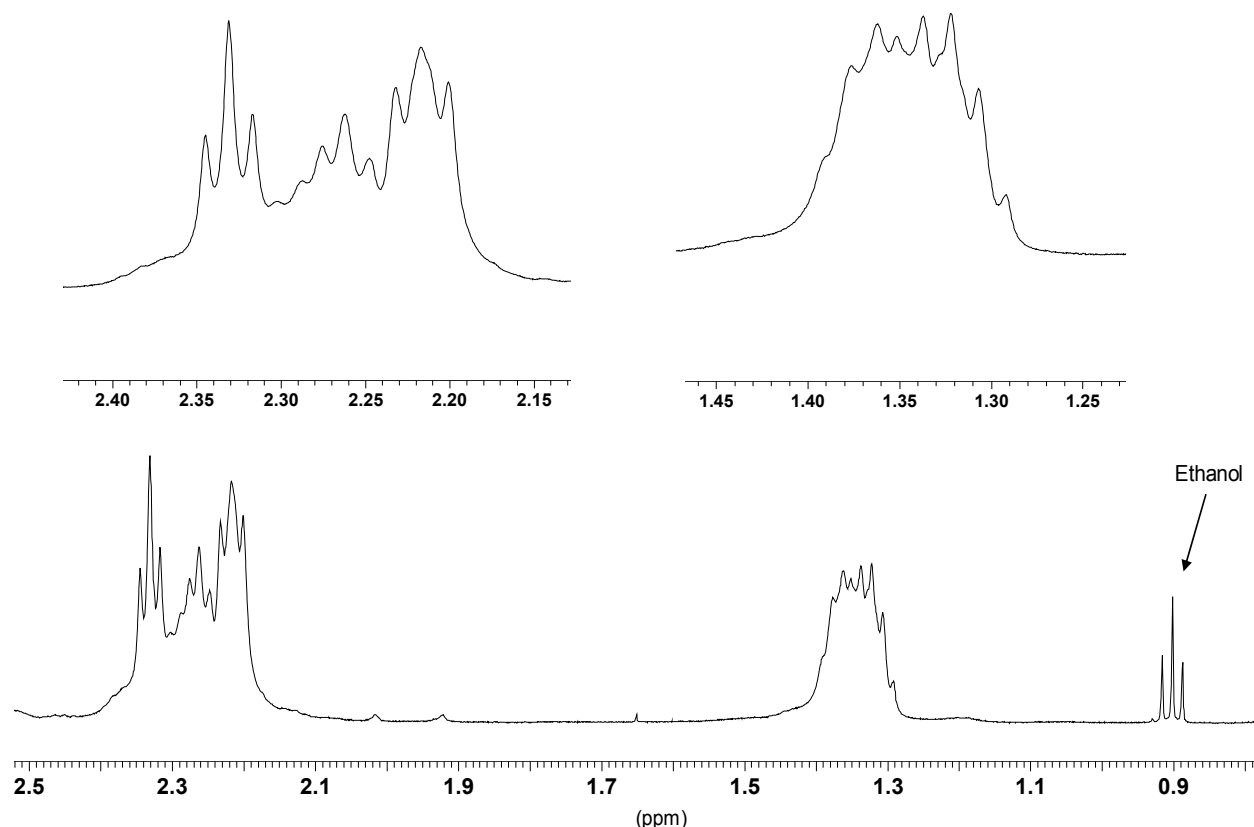


Abb. 21: ^1H -NMR-Spektrum (500 MHz) von **2** in D_2O .

Aufgrund der Molekülsymmetrie würde man im ^{13}C -NMR-Spektrum von **2** insgesamt sechs Signale erwarten. Zwei Aufnahmen wurden schließlich durchgeführt, eine in D_2O , die andere in CDCl_3 . Das ^{13}C -NMR-Spektrum in D_2O folgt tatsächlich den Resultaten aus dem ^1H -NMR-Spektrum und bestätigt die Struktur von **2**. Es ist erwartungsgemäß durch sechs Signale bei $\delta = 27.74$, 31,20, 41,82, 49.54, 53.39 und 53.70 ppm gekennzeichnet. Zwei weitere, weniger intensive Signale bei $\delta = 14.95$ und 59.82 ppm stammen von restlichem Ethanol. Zusätzlich zur Aufnahme in D_2O (125 MHz) wurde auch ein Spektrum (50 MHz) in CDCl_3 aufgenommen, um herauszufinden, ob verschieden protonierte Formen bei der Aufnahme in Wasser eine Rolle spielen. Im CDCl_3 -Spektrum erscheinen die Produktsignale zwar allesamt deutlicher intensiv und besser aufgelöst, dennoch zeigt es keine Unterschiede zu dem Spektrum in D_2O . Beide

Spektren zeigen neben den sechs Produktsignalen zusätzliche Signale von geringer Intensität, die vermutlich auf unterschiedliche Protonierungsgrade zurückgeführt werden können. Abb. 22 und 23 zeigt die ^{13}C -NMR-Spektren für *N,N*-Bis-(3-amino-propyl)-*N'*-{3-[bis-(3-amino-propyl)-amino]-propyl}-propan-1,3-diamin (**2**).

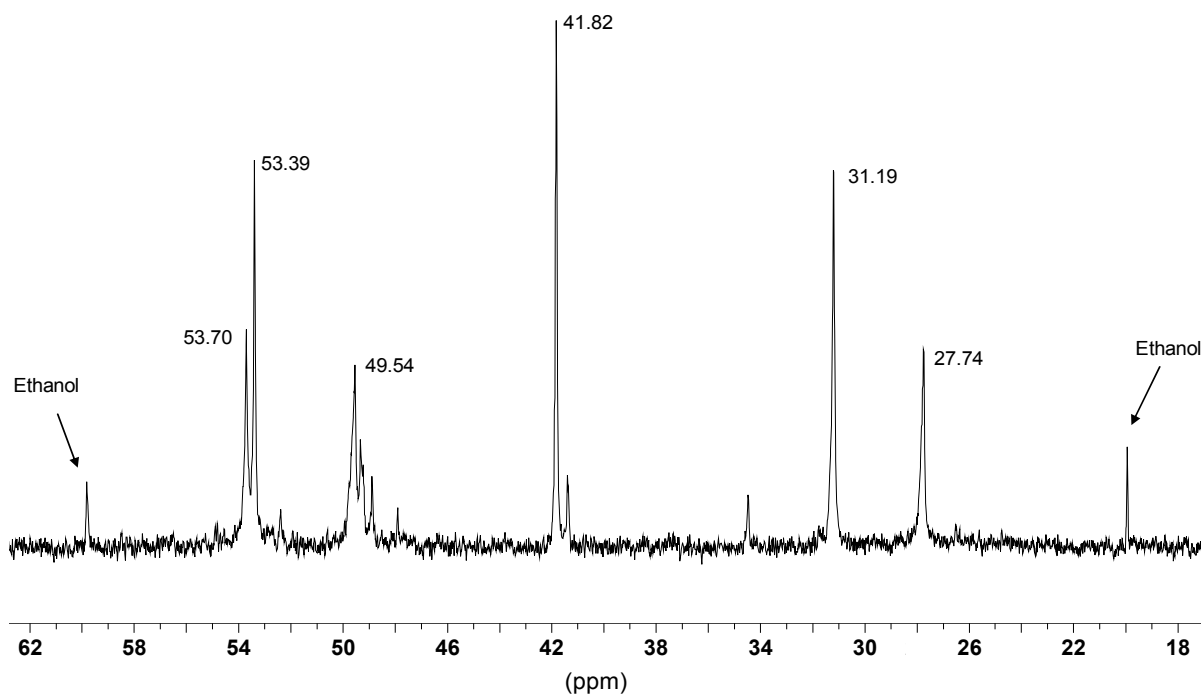


Abb. 22: ^{13}C -NMR-Spektrum von *N,N*-Bis-(3-amino-propyl)-*N'*-{3-[bis-(3-amino-propyl)-amino]-propyl}-propan-1,3-diamin (**2**) in D_2O . Die Aufnahme des Spektrums erfolgte bei 125 MHz.

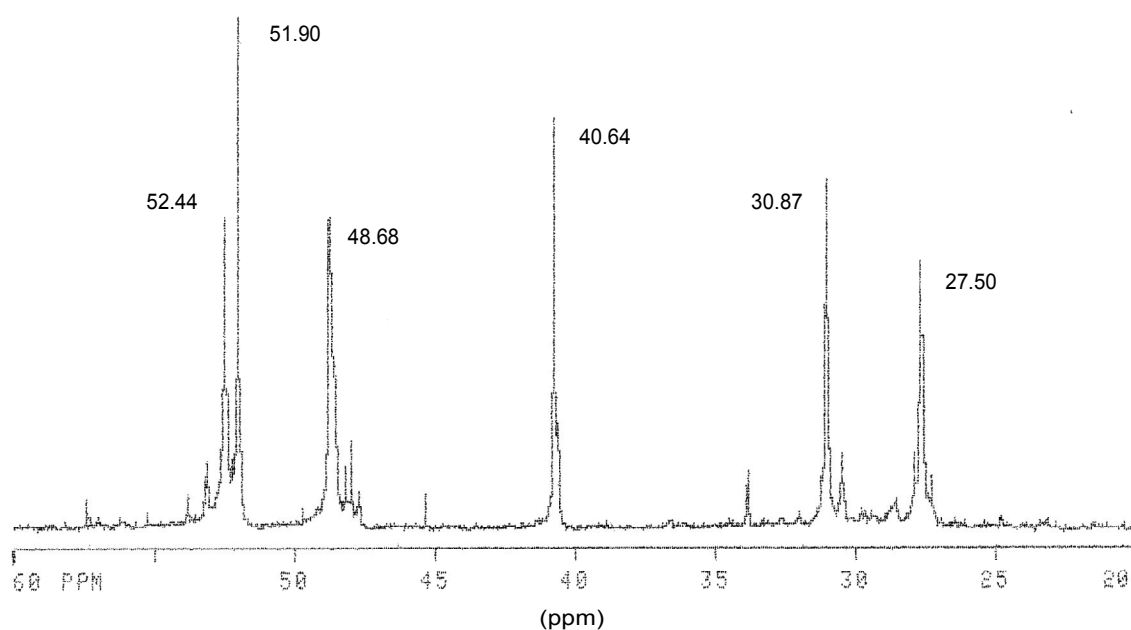
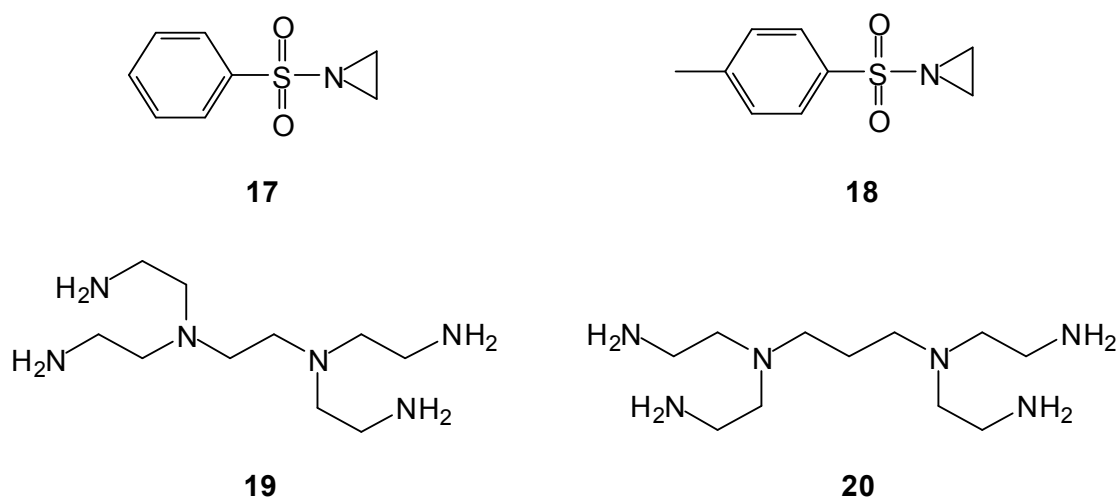


Abb. 23: ^{13}C -NMR-Spektrum von *N,N*-Bis-(3-amino-propyl)-*N'*-{3-[bis-(3-amino-propyl)-amino]-propyl}-propan-1,3-diamin (**2**) in CDCl_3 . Die Aufnahme des Spektrums erfolgte bei 50 MHz.

Die Addition von Acrylnitril (**6**) an Amine stellt eine Methode dar, um verzweigte Polyamine zu synthetisieren. Eine alternative Variante verläuft über die Addition von Phenylsulfonyl- (**17**) oder *p*-Toluolsulfonylaziridin (**18**). Die anschließende Detosylierung liefert dann das Polyamin, wobei als Verzweigungen immer Aminoethylgruppen erhalten werden. HATA, DOH, KASHIWABARA und FUJITA beschrieben 1980 ausführlich die Synthese verschiedener verzweigter Polyamine. Ausgehend von Ethylendiamin und Propylendiamin gelang ihnen über die Addition von Phenylsulfonylaziridin (**17**) die Darstellung von **19** und **20**.^[73]



p-Toluolsulfonylaziridin (**18**) ist gleichermaßen dafür geeignet, und so konnten WAGNON und JACKELS ebenfalls das Amin **19** über die Addition von **18** darstellen.^[74] Parallel zur Addition von Acrylnitril (**6**) an **11** wurde versucht, die Tosylverbindung **21** zu synthetisieren. Deren Detosylierung mit Bromwasserstoff und Eisessig sollte dann das verzweigte Amin **22** ergeben. Nach der Vorschrift von WAGNON und JACKELS aus dem Jahre 1988 erfolgte zunächst die Umsetzung von **11** mit Tosylaziridin (**18**). Das in trockenem Toluol gelöste Amin **11** wurde dabei langsam zu einer Lösung von **18** in Toluol getropft. Nach einem Tag bei Raumtemperatur und drei weiteren Tagen bei 30 °C wurde der Versuch abgebrochen und als Produkt ein Zweiphasengemisch erhalten. Der orangefarbene Feststoff konnte durch Filtrieren leicht von der klaren Toluolphase abgetrennt werden, und nach dem Waschen mit Toluol und Trocknen unter Vakuum folgten ^1H - und ^{13}C -NMR-spektroskopische Untersuchungen. Alle Spektren zeigten eine sehr große Anzahl an Signalen, so dass eine Identifizierung von **21** nicht möglich war.

Da die Reaktion von **11** mit **18** der vorletzte Schritt war, wurden keine weiteren Reinigungsschritte unternommen, sondern durch Hydrolyse mit Bromwasserstoff und Eisessig wurde versucht, das gewünschte Polyamin **22** zu erhalten. Die Detosylierung lieferte sodann in 69 proz. Ausbeute (Ausbeute bezogen auf **22**) ein braun gefärbtes Öl, das ebenfalls nicht weiter untersucht wurde. Direkt im Anschluss daran folgten ionenchromato-graphische Versuche, um das Polyamin **22** in die freie Base zu überführen. Der Literaturvorschrift^[74] zufolge konnten so die Hydrobromid-Salze von **19** und **20** erfolgreich in die entsprechenden freien Basen überführt werden. Als Ionenaustauscher verwendeten sie das stark basische Dowex (1x8) in der Chlorid-Form mit einer Teilchengröße von 200 mesh. Aktive Gruppe war die Trimethylammoniumgruppe. Um schließlich **22** zu chromatographieren, wurde ebenfalls Dowex (1x8) in der Chlorid-Form verwendet, allerdings wurde hierfür eine kleinere Teilchengröße von 50-100 mesh gewählt. Das nach der Chromatographie erhaltene Öl wurde ¹H- und ¹³C-NMR-spektroskopisch untersucht, und es zeigte eindeutig, dass es sich bei dem isolierten Öl nicht um das verzweigte Amin **22** handelte, sondern um Dipropylendiamin-Dihydrochlorid (**23**·2HCl). Somit war bewiesen, dass bereits die Addition von *p*-Toluolsulfonylaziridin (**18**) an **11** nicht erfolgreich verlaufen war. Über die erste Stufe hinweg blieb Verbindung **11** unverändert, so dass nach der Detosylierung das Triamin **23** erhalten wurde. Abb. 24 zeigt den vollständigen Syntheseweg.

Das ¹H-NMR-Spektrum in D₂O zeigt ein Quintuplett mit ³*J* = 7.2 Hz bei δ = 1.42 ppm sowie zwei Triplets mit ³*J* = 7.4 Hz bei 2.41 ppm und ³*J* = 7.1 Hz bei 2.46 ppm. Das Singulett bei δ = 3.17 ppm stammt von Methanol, aus dem zuvor das Dipropylendiamin-Dihydrochlorid (**23**·2HCl) gefällt wurde. Das ¹³C-NMR-Spektrum bestätigt das Resultat und zeigt neben dem Signal für Methanol drei weitere Signale bei δ = 34.31, 41.33 und 48.90 ppm, die allesamt auf das Dihydrochlorid-Salz **23**·2HCl zurückgeführt werden können. Abb. 25 zeigt das ¹H-NMR-Spektrum von **23**·2HCl in D₂O, während in Abb. 26 das zugehörige ¹³C-NMR-Spektrum gezeigt wird. Da sich inzwischen die Addition von Acrylnitril (**6**) an **11** als erfolgreich erwiesen hatte, wurde die Variante mit Tosylaziridin (**18**) nicht weiter verfolgt.

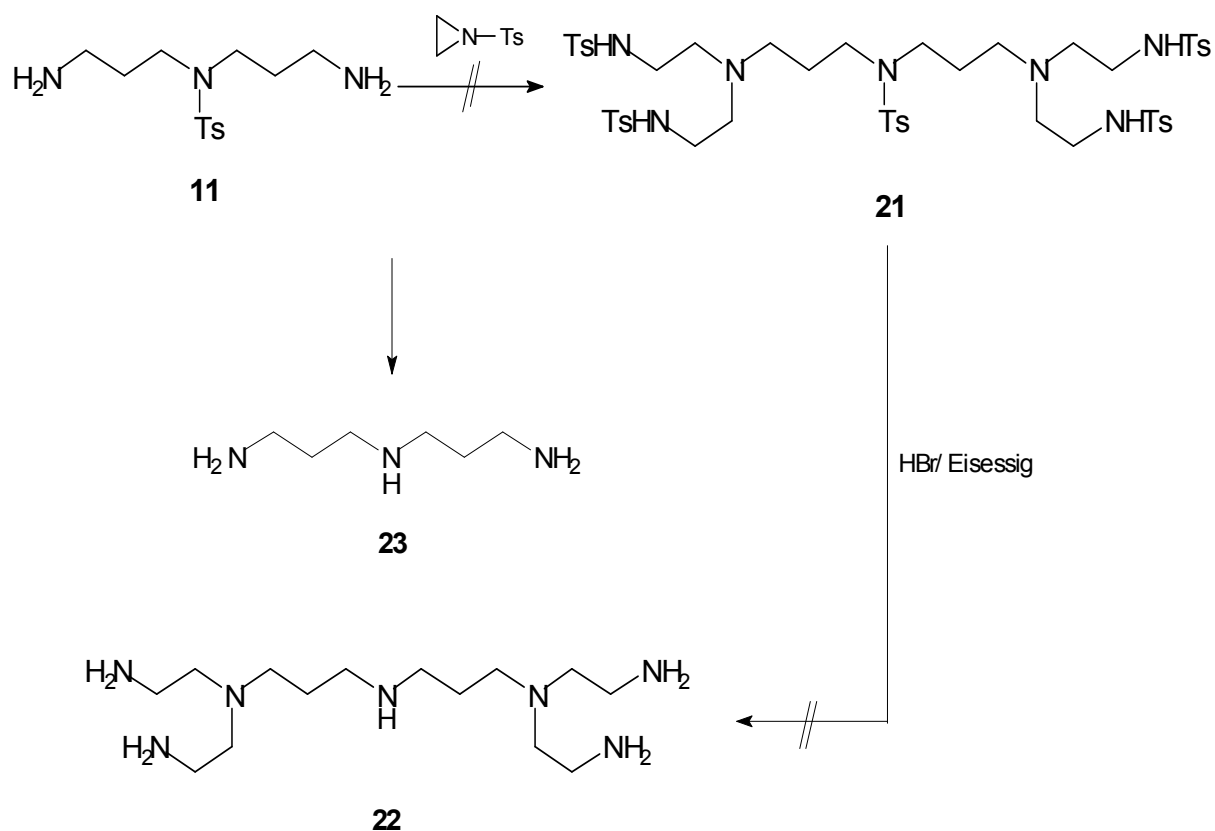


Abb. 24: Vollständiger Syntheseweg zur Darstellung von **22**. Es zeigte sich, dass bereits die Addition von **18** an **11** nicht erfolgreich verlaufen war, so dass nach der Detosylierung Dipropylendiamin (**23**) erhalten wurde. Charakterisiert wurde die Verbindung als Dihydrochlorid-Salz **23**·2HCl.

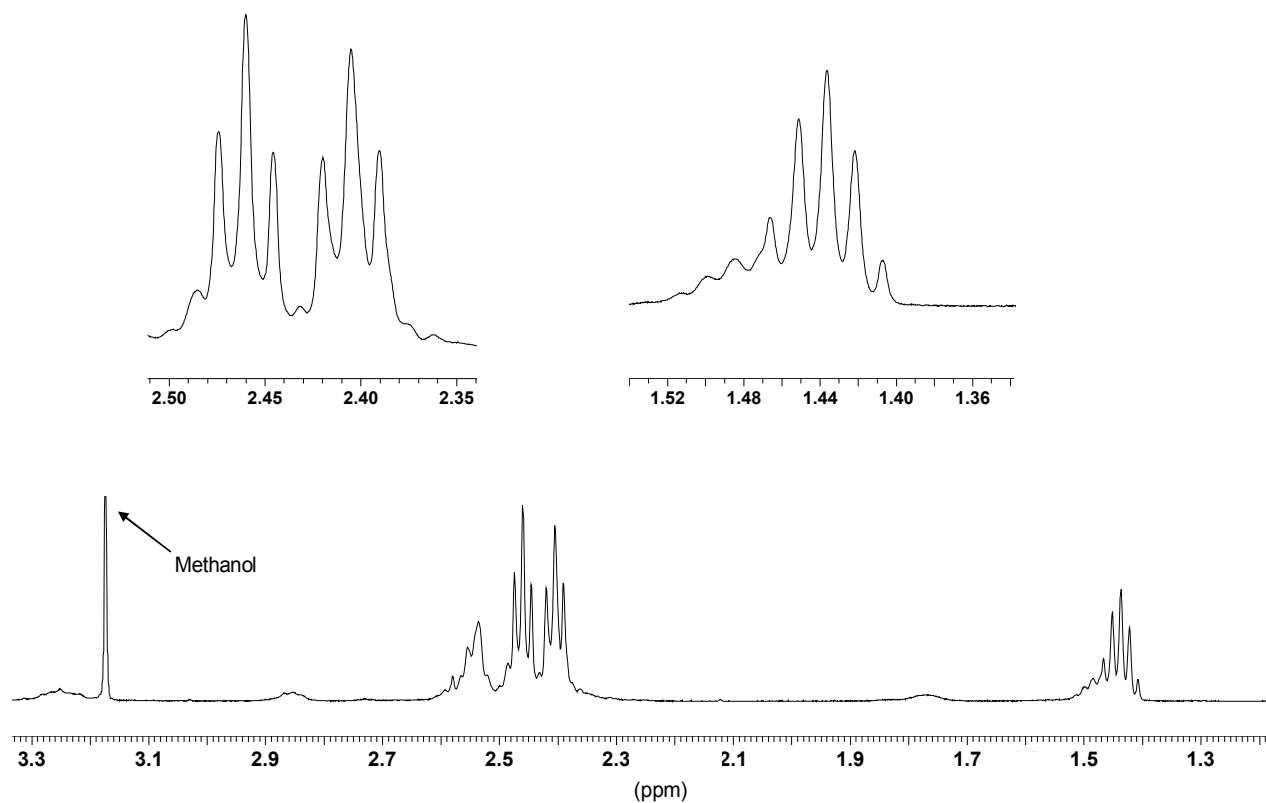


Abb. 25: ^1H -NMR-Spektrum (500 MHz) von Dipropylendiamin-Dihydrochlorid ($23 \cdot 2\text{HCl}$) in D_2O .

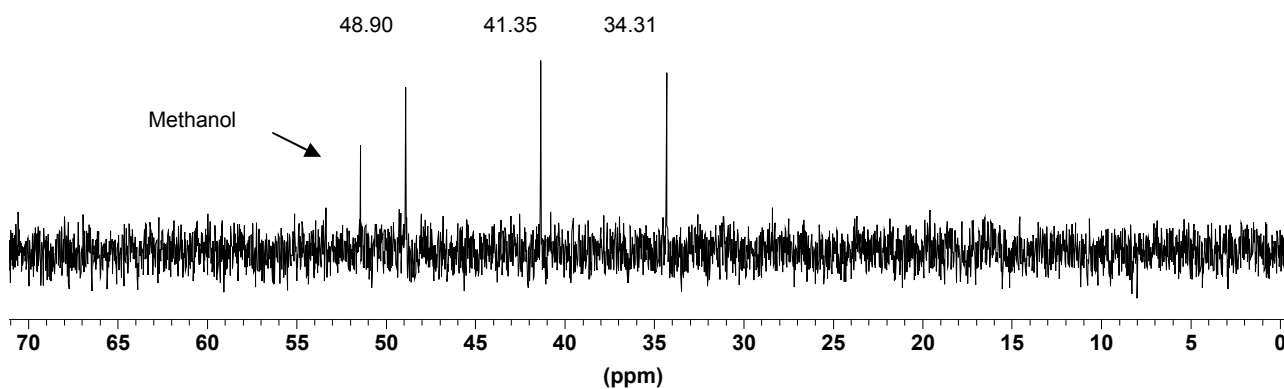


Abb. 26: ^{13}C -NMR-Spektrum (125 MHz) von Dipropylendiamin-Dihydrochlorid ($23 \cdot 2\text{HCl}$) in D_2O .

3.3 Alkylierung I: Darstellung von *N,N*-Bis-(2-amino-ethyl)-*N'*-(2-{2-[bis-(2-amino-ethyl)-amino]-ethylamino}-ethyl)-ethan-1,2-diamin (**3**)

Die *N*-Alkylierung von Aminen ist als Synthesemethode für Monoalkylamine nur eingeschränkt nutzbar, da stets die Gefahr der Mehrfachalkylierung besteht. Die einzelnen Gleichgewichte (vgl. 1.4) stellen sich während einer Alkylierungsreaktion sehr schnell ein, da alle Komponenten ähnliche Basizitäten aufweisen. Nur bei tertiären Aminen ist diese Methode einheitlich. Bei primären und sekundären Aminen hingegen werden oftmals komplexe Produktgemische erhalten, so dass die Monoalkylierung nur schwer zu realisieren ist. Die Monoalkylierung von primären Aminen gelingt aber, wenn die entsprechenden Amine gegenüber dem Alkylhalogenid im Überschuss vorliegen. Idealerweise werden diese dann auch als Lösungsmittel verwendet.^[39-41] Zum Aufbau von **3** schien Tris-(2-aminoethyl)-amin (**13**) und Ethylendibromid besonders geeignet zu sein. Tris-(2-aminoethyl)-amin (**13**) besaß den Vorteil, dass es bereits über die notwendige Verzweigung verfügte. Ethylendibromid ermöglichte zudem die beiderseitige Verknüpfung mit **13**, so dass in nur einer einzigen Stufe das gewünschte Polyamin **3** erhalten wurde. Die Ausbeuten variierten bei insgesamt fünf Ansätzen im Bereich zwischen 78 - 96 %.

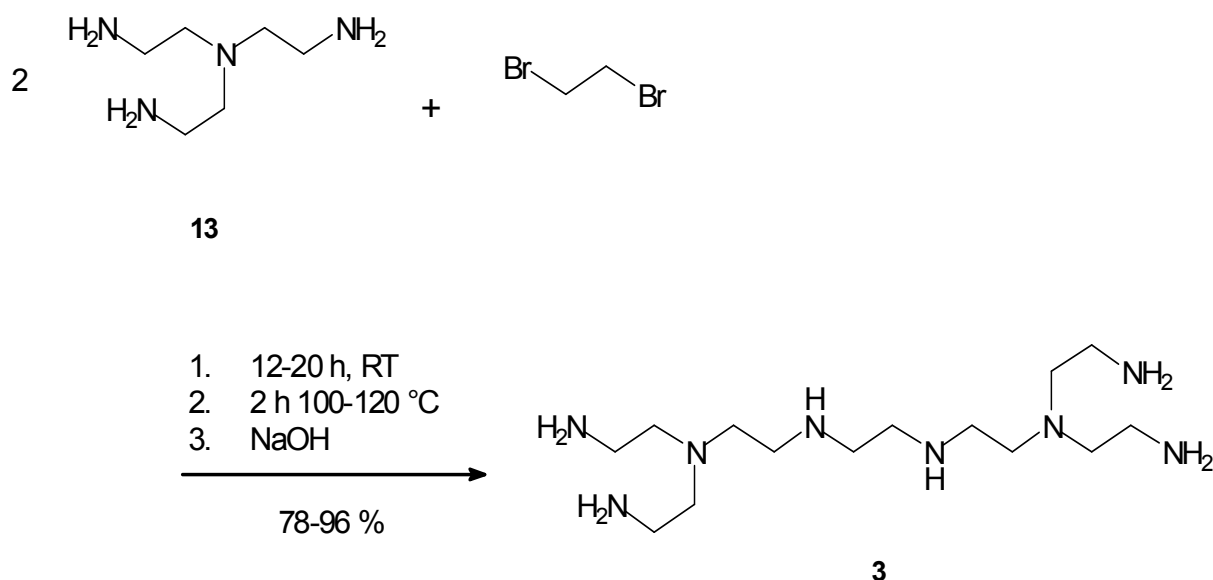
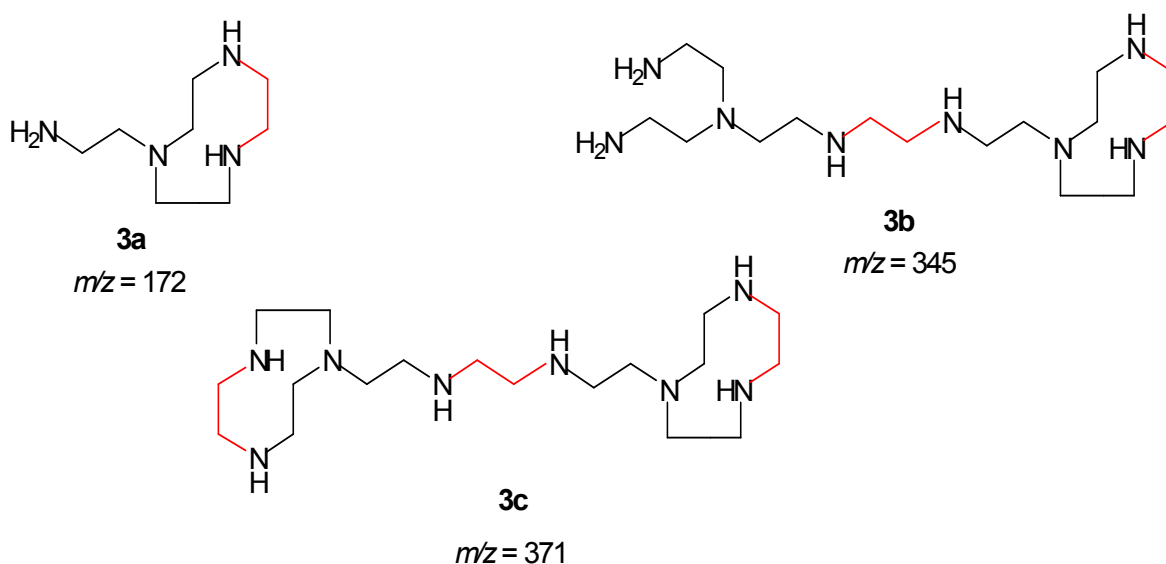


Abb. 27: Darstellung von *N,N*-Bis-(2-amino-ethyl)-*N'*-(2-{2-[bis-(2-amino-ethyl)-amino]-ethyl-amino}-ethyl)-ethan-1,2-diamin (**3**). Um die Mehrfachalkylierung zurückzudrängen, war Tris-(2-aminoethyl)-amin (**13**) gleichzeitig auch das Lösungsmittel.

Um eine Mehrfachalkylierung zu vermeiden, wurde bei der Darstellung von *N,N*-Bis-(2-amino-ethyl)-*N'*-(2-{2-[bis-(2-amino-ethyl)-amino]-ethylamino}-ethyl)-ethan-1,2-diamin (**3**) Tris-(2-aminoethyl)-amin (**13**) auch als Lösungsmittel verwendet. Die Zugabe des Halogenids erfolgte sehr langsam bei Raumtemperatur über einen Zeitraum von 12 - 20 Stunden. Zur Aufarbeitung wurde das Reaktionsgemisch zunächst mit einer 30 - 40 proz. Natriumhydroxidlösung versetzt, um das Amin **3** in die vollständig deprotonierte Form zu überführen. Aufgrund des stark alkalischen Milieus wurde ein leicht bewegliches Öl erhalten, das in einem Scheidetrichter von der farblosen wässrigen Phase abgetrennt werden konnte. Extraktionsversuche mit Methylenchlorid, Chloroform oder Acetonitril führten zu keinem Erfolg, denn stets bildeten sich zwei unterschiedliche Phasen aus. Das Öl konnte in keinem dieser Lösungsmittel aufgenommen werden. Da es sich um ein Öl mit geringer Viskosität handelte, konnte es über Natriumsulfat getrocknet werden, und mithilfe einer DII-Glasfritte konnte das Trockenmittel problemlos abgetrennt werden. Da das Trocknen über Natriumsulfat keine Schwierigkeiten bereitete, konnte auf Natrium verzichtet werden. In älteren Publikationen findet man häufig Vorschriften, die zum Trocknen von flüssigen Aminen Natrium verwenden.

Nach dem Entfernen von **13** durch Vakuumdestillation wurde zunächst ein braun gefärbter, fester Rückstand erhalten. Es folgte die Aufnahme eines ESI-Massenspektrums, (vgl. Abb. 28) welches deutlich zeigt, dass neben dem gewünschten Produkt **3** noch Tris-(2-aminoethyl)-amin (**13**) vorhanden war. Das Edukt **13** konnte also durch die Vakuumdestillation nicht vollständig entfernt werden, und in Übereinstimmung mit der Masse von **3** wurden die Molekül-Ionen $[M+H]^+$ bei $m/z = 319$ und $[M+Na]^+$ bei $m/z = 341$ gefunden. Darüber hinaus erkennt man das Signal für das Molekül-Ion $[E+H]^+$ bei $m/z = 147$, welches in Einklang mit Tris-(2-aminoethyl)-amin (**13**) steht. Auch wenn das Molekül-Ion $[M+H]^+$ bei $m/z = 319$ die höchste Intensität aufweist, so konnte nicht automatisch davon ausgegangen werden, dass **3** auch als Hauptprodukt vorlag. Die Intensitäten von $[M+H]^+$ und $[E+H]^+$ im Spektrum verhalten sich nicht proportional zu deren Gehalt im Rückstand. Darüber hinaus sind auch andere, zyklische Alkylierungsprodukte wie etwa die Amine **3a**, **3b** oder **3c** sowie Gemische davon denkbar. Zusätzliche Signale könnten aber auch durch unterschiedlich protonierte Formen von **3** zustande kommen, da die Messung in einem Gemisch aus Wasser/Methanol (1:1/V:V) erfolgte. Das ESI-Massenspektrum beweist lediglich die Bildung von **3**. Aussagen über dessen Gehalt im Rückstand konnten nicht gemacht

werden. Da Tris-(2-aminoethyl)-amin (**13**) jedoch in sehr großem Überschuss vorlag, und durch dessen langsame Zugabe während der Reaktion auch stets gewährleistet war, sollte die Bildung von **3** bevorzugt stattgefunden haben. Abb. 28 zeigt das ESI-Massenspektrum von *N,N*-Bis-(2-amino-ethyl)-*N'*-(2-{2-[bis-(2-amino-ethyl)-amino]-ethylamino}-ethyl)-ethan-1,2-diamin (**3**).



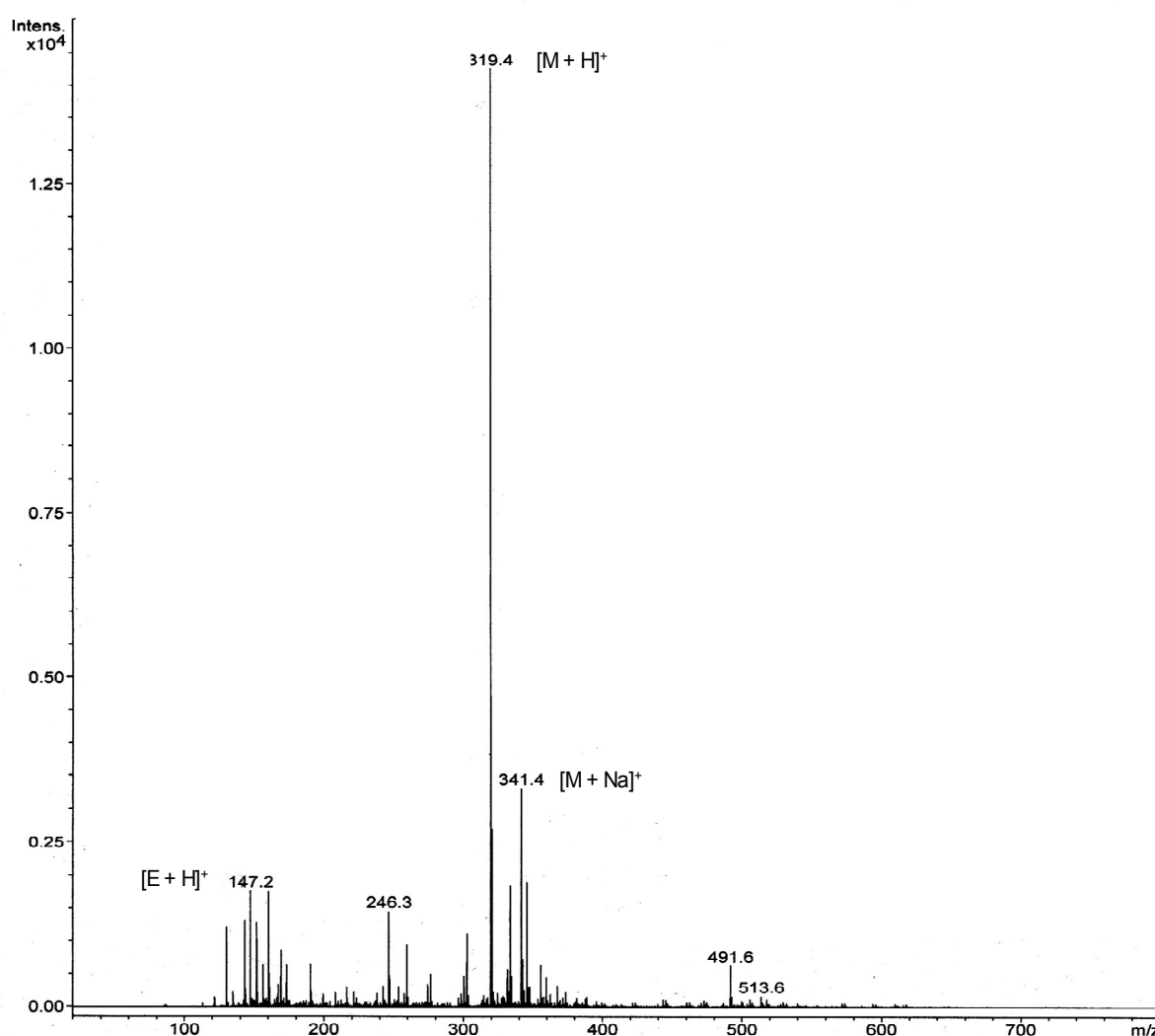


Abb. 28: ESI-Massenspektrum des Rückstandes nach Entfernung des Lösungsmittels Tris-(2-aminoethyl)-amin (**13**).

Die Charakterisierung von Polyaminen erfolgt oftmals in Form ihrer Hydrochloride oder Hydrobromide, da die Salze als Feststoffe vorliegen und leichter zu handhaben sind. Die „freien“ Basen hingegen fallen eher als viskose Öle an, insbesondere bei den höher strukturierten Aminen ist das häufig der Fall. Um das Polyamin **3** als Hydrochlorid isolieren zu können, waren zunächst weitere Reinigungsschritte erforderlich. Einerseits musste das Edukt Tris-(2-aminoethyl)-amin (**13**) vollständig entfernt werden, andererseits enthielt der Rückstand auch Reste von Natriumhydroxid. Vermutlich konnte ein Teil des Salzes gelöst werden, so dass es in der öligen Phase zusammen mit den Aminen **3** und **13** enthalten war. Daher verblieb nach dem Entfernen von **13** durch Vakuumdestillation ein fester Rückstand, der neben dem Produkt **3** auch

Natriumhydroxid enthielt. Durch Digerieren in Chloroform konnte das Salz schließlich entfernt werden.

Nachdem das Chloroform entfernt worden war, konnte das Amin **3** in das vollständig protonierte Hydrochlorid-Salz **3**·8HCl überführt werden. Eine Variante führte dabei zum Erfolg: durch Ausfällen mit konzentrierter Salzsäure in Ethanol als Lösungsmittel wurde das Salz als farbloser Feststoff erhalten. Da sich der Feststoff als sehr hygroskopisch erwies, musste bei der Überführung von **3** in das Hydrochlorid **3**·8HCl konsequent unter Schutzgas gearbeitet werden. Zur weiteren Charakterisierung folgten dann ¹H-NMR- und ¹³C-NMR-spektroskopische Untersuchungen in D₂O.

Das ¹H-NMR-Spektrum von **3**·8HCl in D₂O ist durch fünf Signalgruppen gekennzeichnet. Ein Singulett erscheint bei $\delta = 3.60$ ppm, zwei Triplets bei $\delta = 3.35$ und 2.99 ppm, sowie zwei weitere ineinander verschobene Triplets erscheinen zwischen $\delta = 2.91 - 2.94$ und $3.17 - 3.21$ ppm. Die Signalgruppen stehen im Verhältnis 1:1:2:1:2 zueinander. Für die vollständig protonierte Form von **3** würde man ebenfalls fünf Signale erwarten, ein Singulett, das aufgrund der Symmetrie den beiden Methylengruppen im Ethylendiamin-Gerüst zugeordnet werden kann sowie vier weitere Triplets für die anderen CH₂-Gruppen in **3**. Insgesamt wären die Signale dann durch ein Intensitätsverhältnis von 1:1:1:2:2 gekennzeichnet, das gleiche Verhältnis, das auch experimentell gefunden wird. Abb. 29 zeigt das ¹H-NMR-Spektrum von *N,N* - Bis-(2-amino-ethyl)- *N'*-(2- {2-[bis-(2-amino-ethyl)-amino]-ethylamino}-ethyl)-ethan-1,2-diamin (**3**) in D₂O in Form des vollständig protonierten Hydrochlorid-Salzes **3**·8HCl.

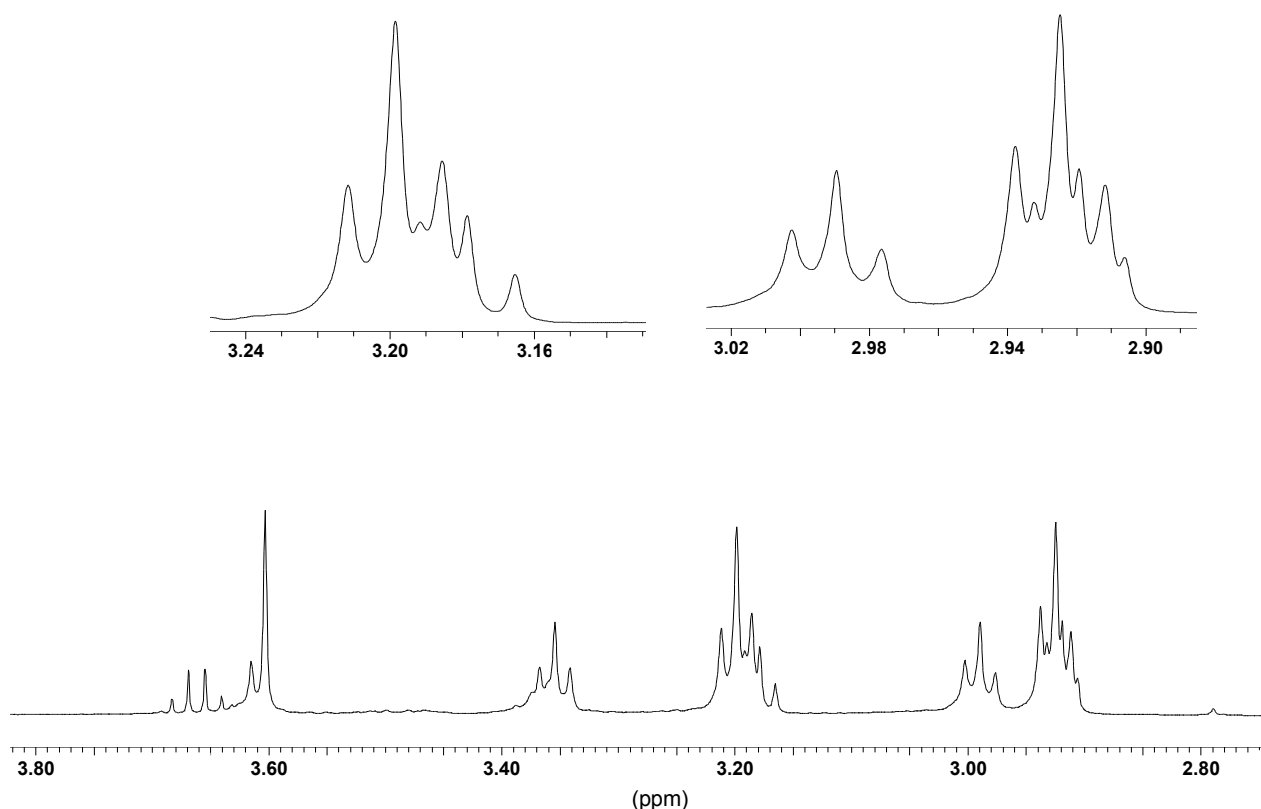


Abb. 29: ^1H -NMR-Spektrum (500 MHz) *N,N*-Bis-(2-amino-ethyl)-*N'*-(2-{2-[bis-(2-amino-ethyl)-amino]-ethylamino}-ethyl)-ethan-1,2-diamin (**3**) in D_2O .

Das Molekül verfügt über eine große Anzahl an Aminfunktionen, so dass die unterschiedlich protonierten Formen vor allem in Wasser eine Rolle spielen sollten. Zwei Signalgruppen erscheinen als zwei ineinander verschobene Triplets. Beide können den Methylengruppen in den endständigen Verzweigungen zugeordnet werden, und von der Intensität her entsprechen beide Signale jeweils acht Protonen. Lage und Intensität sprechen dafür, und aufgrund unterschiedlicher Protonierungsgrade beobachtet man zwei verschiedene Triplets. Bei vollständiger Deprotonierung hingegen würde man nur ein Triplett erwarten.

Das ^{13}C -NMR-Spektrum folgt dem und zeigt insgesamt fünf Signale bei $\delta = 36.52$, 43.55, 45.30, 49.00 und 49.92 ppm, eine Anzahl die aufgrund der Symmetrie von **3** auch erwartet wurde. Darüber hinaus erkennt man zwei weitere, weniger intensive Peaks bei $\delta = 16.90$ und 57.52 ppm. Beide Signale konnten auf Ethanol zurückgeführt werden, in das zuvor das Hydrochlorid-Salz **3**·8HCl gefällt wurde. Abb. 30 zeigt das zugehörige Spektrum in D_2O .

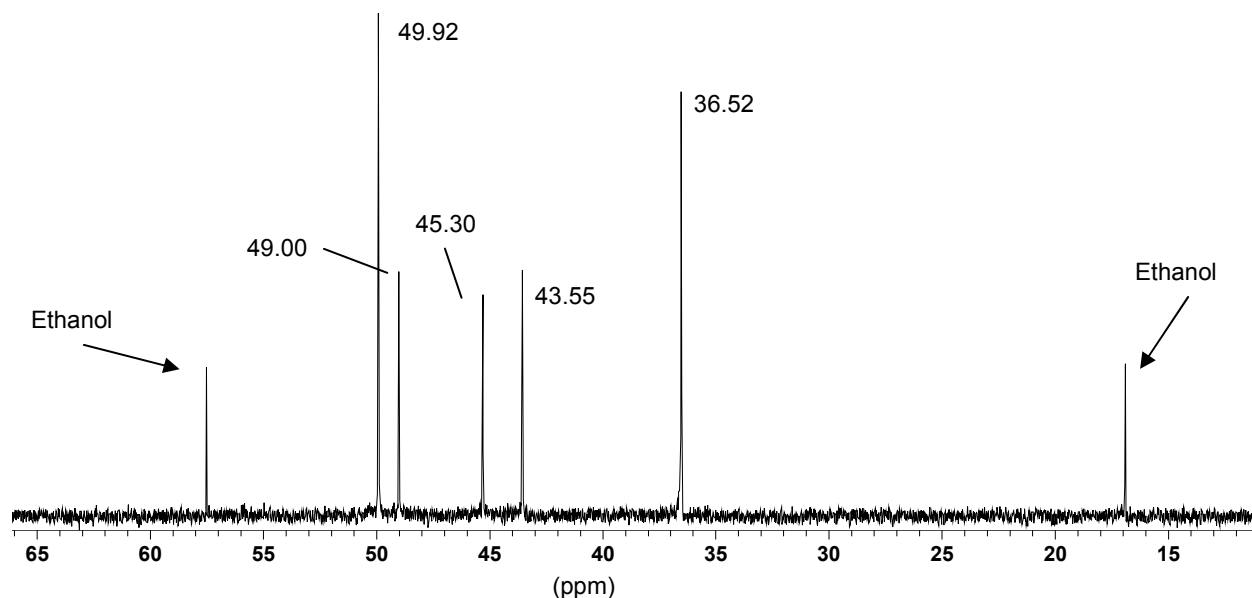


Abb. 30: ^{13}C -NMR-Spektrum (125 MHz) von *N,N*-Bis-(2-amino-ethyl)-*N'*-(2-{2-[bis-(2-amino-ethyl)-amino]-ethylamino}-ethyl)-ethan-1,2-diamin (**3**) in D_2O .

Um eine bessere Zuordnung treffen zu können, wurde auch die zugehörige ^{13}C , ^1H -Shift-Korrelation von **3** in D_2O betrachtet. Die Korrelation zeigt deutlich, dass die jeweiligen ineinander verschobenen Triplets einem Signal im ^{13}C -NMR-Spektrum zugeordnet werden können. Das zugehörige Spektrum wird in Abb. 31 gezeigt.

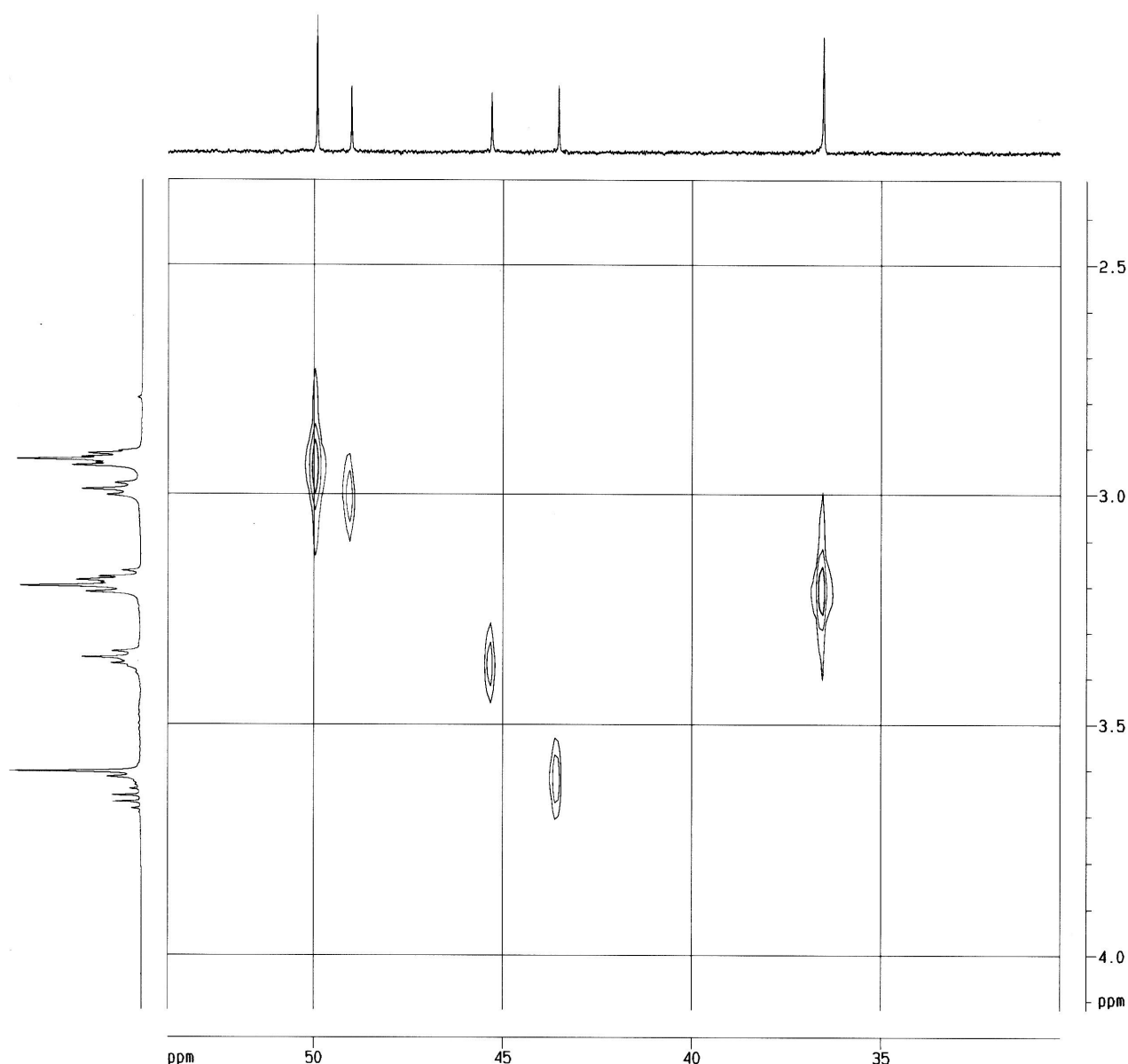


Abb. 31: ^{13}C , ^1H -Shift-Korrelation von *N,N* - Bis - (2-amino-ethyl)- *N'*-(2-{2-[bis-(2-amino-ethyl)-amino]-ethylamino}-ethyl)-ethan-1,2-diamin (**3**). Zur Aufnahme des Spektrums wurde das Hydrochlorid-Salz (**3**·8HCl) eingewogen, als Lösungsmittel diente D_2O .

Die NMR-Spektren zeigten deutlich, dass neben dem Polyamin **3** auch noch Reste von Ethanol vorhanden waren. Die Elementaranalysen zeigten daher auch viel zu hohe Werte für den Kohlenstoff- und Wasserstoffgehalt. Bessere Ergebnisse wurden schließlich durch das Ausfällen in Methanol erzielt. Die untere Tabelle gibt eine Übersicht über die gefundenen Werte für Kohlenstoff, Wasserstoff und Stickstoff. Bei der Überführung von **3** in das vollständig protonierte Hydrochlorid-Salz **3**·8HCl hatte sich ein Methanol/Säure-Verhältnis von 30:1 (V:V) als besonders geeignet erwiesen. Ein

ähnliches Mischungsverhältnis (30:0.8/V:V) hatte zuvor auch bei der Ethanol-Variante erfolgreich zum Hydrochlorid $3 \cdot 8\text{HCl}$ geführt.

Tab. 1: Werte für Kohlenstoff, Wasserstoff und Stickstoff nach der Isolierung von **3** als Hydrochlorid-Salz $3 \cdot 8\text{HCl}$.

Fällung als Hydrochlorid in Ethanol/ konz. HCl (30:0.8 / V:V)		Fällung als Hydrochlorid in Methanol/ konz. HCl (30:1 / V:V)		
Element	ber.*	gef.	gef.	gef.
C	27.56	31.35	28.71	27.62
H	7.60	8.50	7.71	7.85
N	18.36	18.70	17.76	17.98

*berechnet für das vollständig protonierte Hydrochlorid-Salz (8 HCl).

3.4 Zusammenfassung

Die Darstellung und Charakterisierung von verzweigten aliphatischen Polyaminen war ein Ziel dieser Arbeit. Über bewährte Methoden wie Michael-Addition, Reduktion und Alkylierung waren so *N,N*-Bis-(3-amino-propyl)-*N'*-(3-[bis-(3-amino-propyl)-amino]-propyl)-propan-1,3-diamin (**2**) und *N,N*-Bis-(2-amino-ethyl)-*N'*-(2-[2-[bis-(2-amino-ethyl)-amino]-ethylamino]-ethyl)-ethan-1,2-diamin (**3**) zugänglich. Ausgehend von 3,3'-Iminodipropio-nitril (**9**) konnte auf divergentem Wege über sechs Stufen das Polyamin **2** synthetisiert werden, da die iterative Sequenz von Michael-Addition und Reduktion eine systematische Verdopplung der Aminfunktionen erlaubte. Insgesamt konnten so vier zusätzliche Verzweigungen (prim. Aminogruppen) im Molekül geschaffen werden. Über das Tosylamid **10** wurde nach Reduktion mit Natriumborhydrid und Cobalt(II)-chlorid zunächst das Diamin **11** mit einer Ausbeute von 96 % erhalten, das durch anschließende Addition von Acrylnitril (**6**) unter essigsaurer Katalyse in das Tetranitril **12** überführt werden konnte (90 %). Wiederholte Reduktion und Entfernung der Schutzgruppe mit Bromwasserstoff und Eisessig lieferte dann das Polyamin **2** in Form des Hydrochlorid-Salzes **2**·7HBr. Da es sehr hygroskopisch war, wurde es nicht weiter aufbereitet, sondern direkt in die freie Base überführt. So erfolgte die Freisetzung einerseits mittels konzentrierter Ammoniaklösung (25 proz.), andererseits durch 40 – 50 proz. Natriumhydroxid-Lösung. In Vorversuchen konnten schließlich bis zu einem Gramm an Amin **2** gewonnen werden. Die Addition von *p*-Toluolsulfonylaziridin (**18**) an das Diamin **11** führte zu keinem Erfolg, so dass das verzweigte Polyamin **22** nicht gebildet wurde. Stattdessen wurde nach Entfernung der Schutzgruppe das unverzweigte Dipropylentriamin (**23**) erhalten.

Die Darstellung von *N,N*-Bis-(2-amino-ethyl)-*N'*-(2-[2-[bis-(2-amino-ethyl)-amino]-ethylamino]-ethyl)-ethan-1,2-diamin (**3**) gelang nach einer einstufigen Alkylierungsreaktion mit Tris-(2-aminoethyl)-amin (**13**) und Ethylendibromid bei Raumtemperatur. Um eine Mehrfachalkylierung zu vermeiden, wurde Tris-(2-aminoethyl)-amin (**13**) auch als Lösungsmittel verwendet. Bei insgesamt fünf Ansätzen variierten die Ausbeuten für das Rohprodukt im Bereich zwischen 78 – 96 %. Das vollständig protonierte Hydrochlorid-Salz **3**·8HCl konnte schließlich durch Ausfällen mit konzentrierter Salzsäure (37 proz.) in Ethanol oder Methanol gewonnen werden. Ein Methanol/Säure-Verhältnis von 30:1 (V:V) lieferte das reine Salz **3**·8HCl als farblosen Feststoff. Andere,

zyklische Alkylierungsprodukte wie etwa die Amine **3a**, **3b** und **3c** wurden während der Alkylierung nicht gebildet und konnten anhand des ESI-Massenspektrums eindeutig ausgeschlossen werden

Versuche zur Darstellung von N^1 -[2-(5-Amino-2-aminomethyl-pentylamino)-ethyl]-2-aminomethyl-pentan-1,5-diamin (**1**) erfolgten ebenfalls auf divergentem Wege über drei Stufen. Die Dimerisierung von Acrylnitril (**6**) zum α -Methyldimer **7** erfolgte nach zwei Methoden, einmal nach der Vorschrift von BAIZER und ANDERSON sowie einer moderneren Variante von BASAVIAH, GOWRISWARI und BHARATH. Erstere lieferte das Dimer **7** mit einer Ausbeute von 6 %, wohingegen mit der zweiten Variante die Ausbeute auf 18 % gesteigert werden konnte. Im zweiten Schritt wurde in quantitativer Ausbeute das Aminotetranitril **8** durch Addition von Ethylendiamin an **7** erhalten. Versuche zur Hydrierung erfolgten nach mehreren Methoden, einmal mit Wasserstoff und Rhodium auf Aluminiumoxid in ammoniakalischer Ethanollösung, mit Diisobutylaluminiumhydrid in trockenem THF sowie mit Lithiumaluminiumhydrid in THF. Alle Versuche führten zu keinem Erfolg. Während die katalytischen Hydrierungen ($\text{Rh}/\text{Al}_2\text{O}_3$) unvollständig verliefen, konnte bei den Umsetzungen mit **DIBAH** und LiAlH_4 das Polyamin **1** nicht identifiziert werden.

3.5 Ausblick

Bei der Mehrstufensynthese von *N,N*-Bis-(3-amino-propyl)-*N'*-{3-[bis-(3-amino-propyl)-amino]-propyl}-propan-1,3-diamin (**2**) haben sich die Reduktionen mit Natriumborhydrid und Co(II)-chlorid allesamt als erfolgreich erwiesen, während Versuche zur Hydrierung von **8** zu keinem Ergebnis führten. So konnten die Vorstufen **10** und **12** bei der Synthese von **2** mithilfe von $\text{NaBH}_4/\text{Co(II)}$ in recht hohen Ausbeuten in die entsprechenden primären Amine überführt werden. Bei allen Umsetzungen lag die sekundäre Aminfunktion geschützt vor, das heißt, vor den Reduktionen mit Natriumborhydrid wurde der Initiator 3,3'-Iminodipropionitril (**9**) zunächst in das Tosylamid **10** überführt. Ausgehend davon erfolgten dann die Hydrierungen. Das symmetrisch aufgebaute Aminotetranitril **8** verfügt insgesamt über zwei sekundäre Aminogruppen. Alle Hydrierungsversuche wurden ohne vorherige Einführung von Schutzgruppen durchgeführt. Da keine der Varianten ($\text{Rh}/\text{Al}_2\text{O}_3$, **DIBAH** und LiAlH_4) erfolgreich verlaufen war, könnte eine Synthese über Schutzgruppen zum Ziel führen.

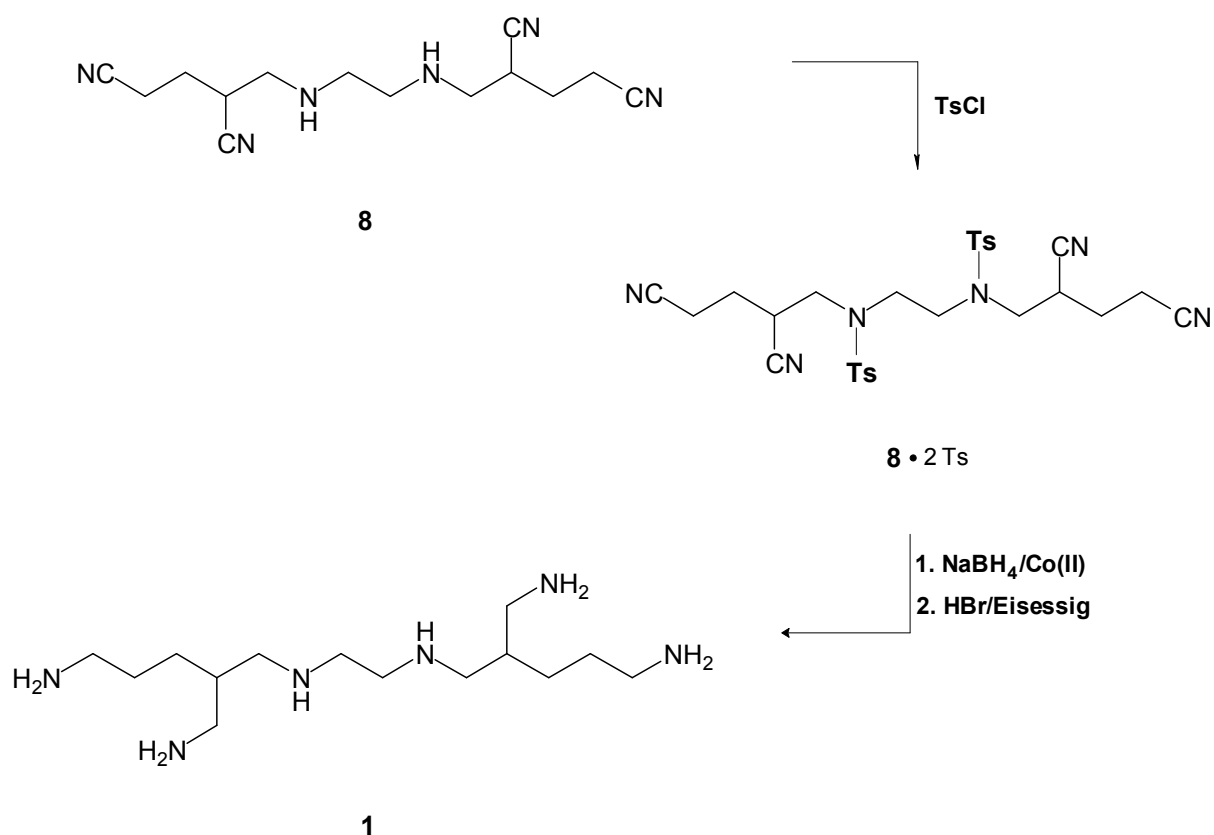
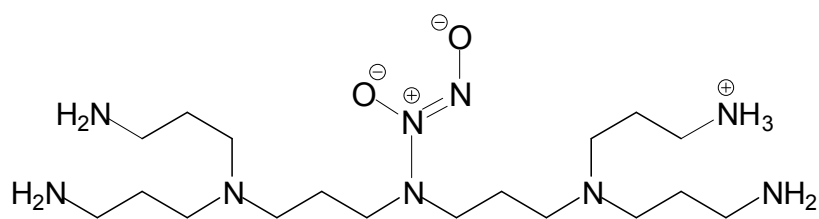
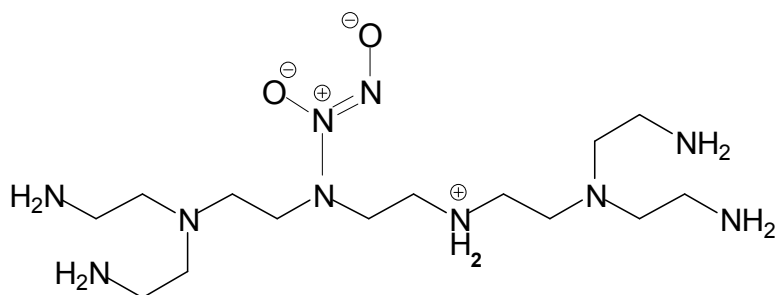


Abb. 32: Möglicher Syntheseweg zur Darstellung von **1**. Die Reduktion mittels $\text{NaBH}_4/\text{Co(II)}$ sollte nach Einführung der Tosylatgruppen in **8** erfolgen.

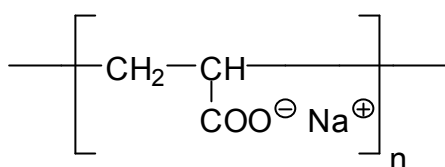
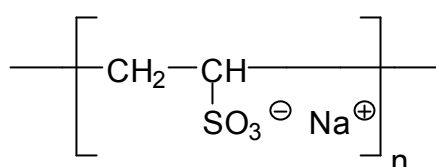
Wie in der oberen Abbildung gezeigt, sollte die Tosylierung von **8** zum Tosylamid **8·2Ts** durch Umsetzung mit *p*-Toluolsulfonsäurechlorid möglich sein. Anschließende Reduktion mit $\text{NaBH}_4/\text{Co(II)}$ und Entfernung der Schutzgruppen sollte dann das gewünschte Polyamin **1** liefern. Das Tosylamid **8·2Ts** zeigt Ähnlichkeiten zu den Amiden **10** und **12**, so dass die Hydrierung keine Schwierigkeiten bereiten sollte. Alle Reaktionen wurden bereits erfolgreich zur Synthese von **2** angewendet. Das gilt auch für die zahlreichen von VÖGTLE et al. synthetisierten Amin-Dendrimere aus den Jahren 1978 und 1993.

Aufgrund ihrer besonderen Struktur und der Vielzahl an Aminogruppen stellen die verzweigten aliphatischen Polyamine *N,N*-Bis-(3-amino-propyl)-*N'*-{3-[bis-(3-amino-propyl)-amino]-propyl}-propan-1,3-diamin (**2**) und *N,N*-Bis-(2-amino-ethyl)-*N'*-(2-{2-[bis-(2-amino-ethyl)-amino]-ethylamino}-ethyl)-ethan-1,2-diamin (**3**) attraktive Vorläufer für *N*-Diazeniumdiolate dar, denn sie sollten im Gegensatz zu den linear strukturierten Vertretern **DETA/NO**, **SPER/NO**, **PAPA/NO** oder **DPTA/NO** die NONO-Gruppe noch besser stabilisieren können. Unter physiologischen Bedingungen sollten die Donatoren **2·NONO** und **3·NONO** dann Stickstoffmonoxid freisetzen, indem sie durch Wechselwirkung mit natürlichen oder Modellrezeptoren eine gezielte Konformationsänderung erfahren und somit wieder destabilisiert werden.

**2·NONO****3·NONO**

Die Darstellung der NONOate **2**·NONO und **3**·NONO sollte durch Umsetzung der Amine **2** und **3** mit Stickstoffmonoxid in Acetonitril oder Tetrahydrofuran möglich sein. Ebenso wie bei den literaturbekannten Verbindungen **DEA/NO**, **DETA/NO**, **SPER/NO**, **PAPA/NO**, **DPTA/NO** oder **PIPERAZI/NO** sollten auch die verzweigten Donatoren **2**·NONO und **3**·NONO nach der Umsetzung mit NO als Feststoffe ausfallen. Aufgrund der Reaktionsbedingungen sollten die intramolekular stabilisierten Salze bevorzugt gebildet werden.

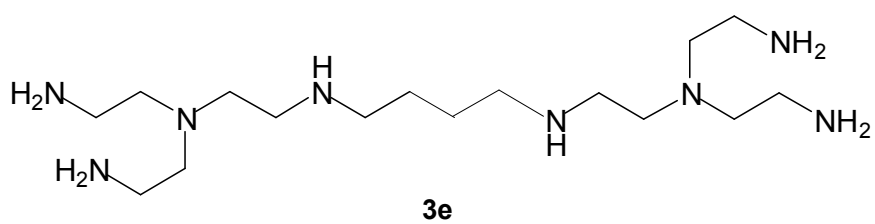
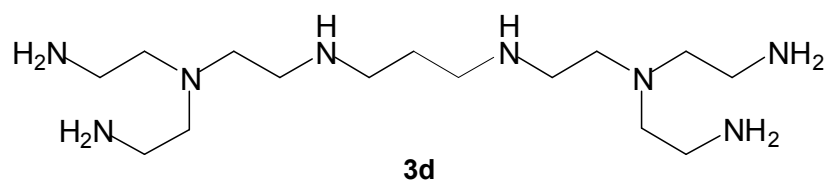
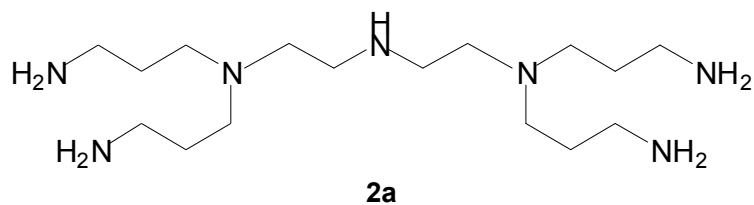
Auf der Suche nach geeigneten Modellrezeptoren müssen Strukturmerkmale und Eigenschaften der natürlichen Vorbilder berücksichtigt und möglichst detailgetreu nachempfunden werden. Zwei besondere Merkmale zeichnen die Glykosaminoglykane aus. Neben einer sehr großen Anzahl von negativen Ladungen (hohe Ladungsdichte) handelt es sich gleichzeitig auch um Polymere. Beide Eigenschaften werden in idealer Weise von den Polyelektrolyten repräsentiert, wasserlösliche Polymere mit seiten- oder kettenständigen ionischen Gruppen. Einfach strukturierte Polyelektrolyte wie die Natriumsalze der Poly-(acrylsäure) (**I**) oder der Poly-(vinylsulfonsäure) (**II**) stellen geeignete Modellrezeptoren dar.^[55]

**I****II**

Die negativ geladenen Carboxylatgruppen in **I** bzw. Sulfatgruppen in **II** erzeugen eine sehr hohe Ladungsdichte, in etwa vergleichbar mit der Ladungsverteilung in den Glykosaminoglykanen. Die Wechselwirkung der Donatoren **2**·NONO und **3**·NONO könnte anhand beider Polyelektrolyte systematisch untersucht werden.

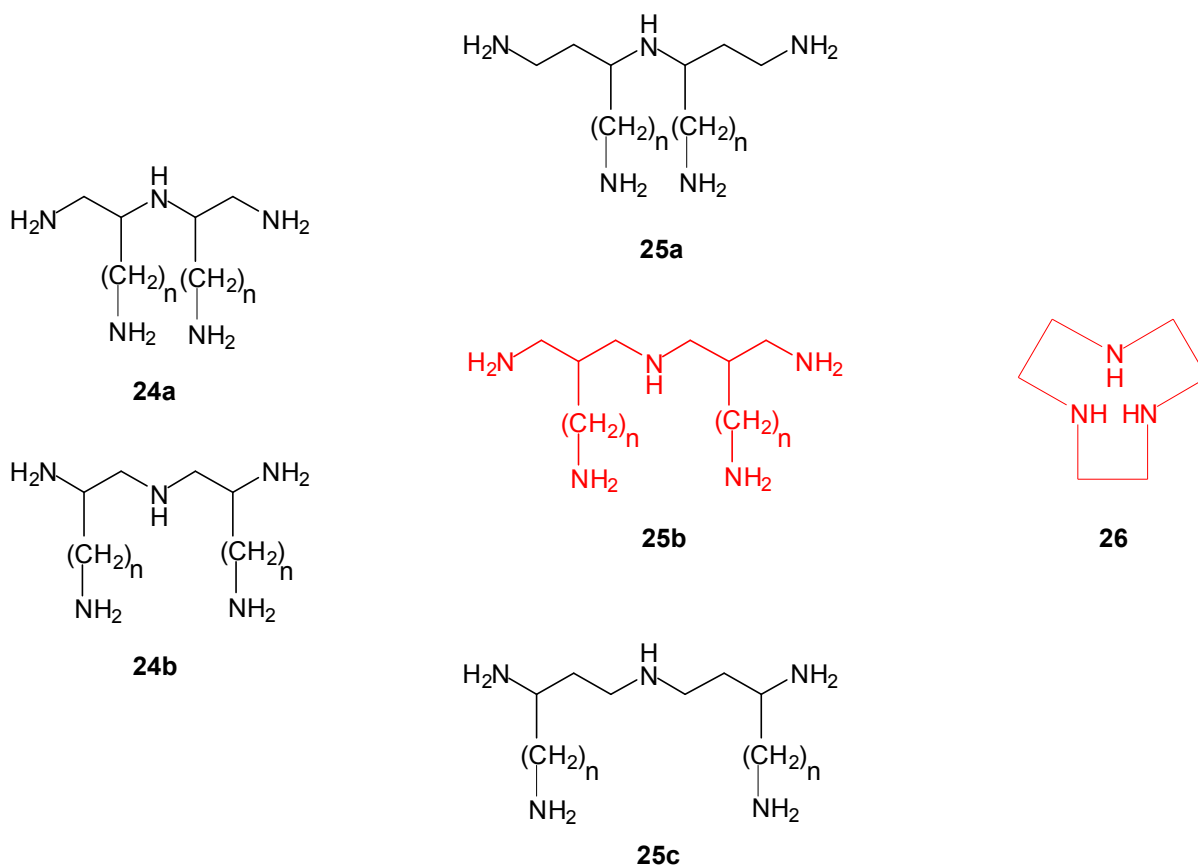
Bei der Darstellung von **2** und **3** haben sich die Synthesestrategien als erfolgreich erwiesen. Sowohl Michael-Addition und Reduktion als auch die Alkylierung können dazu verwendet werden, verzweigte aliphatische Polyamine zu synthetisieren. Auf der Grundlage dieser Ergebnisse wären auch andere aliphatische Amine denkbar. So könnte das um eine Methyleinheit kleinere Iminodiacetonitril als Initiator zum Aufbau

von **2a** dienen, während Tris-(2-aminoethyl)-amin (**13**) und beispielsweise 1,3-Dibrompropan oder 1,4-Dibrombutan zu den verzweigten Aminen **3d** und **3e** führen sollten.



4 Weitere Synthesen und Syntheseveruche zur Darstellung von hydrophilen Polyaminen und deren *N*-Diazeniumdiolaten

Zusätzlich zu den in Kapitel 3 diskutierten Reaktionen wurden zwei weitere Synthesestrategien verfolgt. Linear verknüpfte *N*-Diazeniumdiolate wie das **DETA/NO** und das **PAPA/NO** sind seit langem bekannt und hinsichtlich ihrer Stabilität intensiv untersucht worden.^[32-34] Ähnlich wie bei diesen NONOaten die Stabilisierung intramolekular über die endständigen Aminogruppen erfolgt, sollten zusätzliche Verzweigungen im Amingerüst zu einer noch höheren Stabilität beitragen. Daher schienen verzweigte Polyamine vom Typ **25** und **26** ebenso wie die Amine **1-3** besonders attraktive Vorstufen für hydrophile NONOate zu sein. Über das Konzept der aliphatischen Amine hinaus wurden dann auch zyklische Amine in Betracht gezogen, denn ähnlich wie bei den NONOaten der Polyamine sollte für ein gegebenes zyklisches NONOat eine bestimmte Konformation zur Stabilisierung führen, wenn im Molekül selbst die Diazeniumdiolatgruppe mit einer weiteren Aminfunktion intramolekular in Wechselwirkung treten kann. Geeigneter Vorläufer hierfür schien der einfache Makrozyklus Triazacyclononan (**26**) zu sein.



Die Reduktion von Amiden und Nitrilverbindungen ist eine weit verbreitete Methode, um Amine zu synthetisieren. Die Reaktionen sind in der Regel allgemein anwendbar, wobei besonders komplexe Hydride wie **LiAlH₄** oder **NaBH₄** sowie verschiedene überkangsmetallkatalysierte Reaktionen eine große Rolle spielen. Selektiv wirkende Reduktionsmittel wie Natriumcyanoborhydrid oder Diisobutylaluminiumhydrid erhöhen zudem die Bandbreite an möglichen Reaktionen. Da die Reduktion von Amiden und Nitrilen oftmals nur eine einzige Stufe umfasst, eignen sich zum Aufbau verzweigter Polyamine vor allem die Bausteine, die bereits über mindestens eine dieser funktionellen Gruppen verfügen. Verschiedene Derivate der Cyanessigsäure (**27**) schienen daher besonders geeignet zu sein, da sie einerseits kostengünstig erhältlich bzw. durch Synthese leicht zugänglich waren, zum anderen verfügten sie allesamt über eine endständige Cyanogruppe. Abb. 33 zeigt den vollständigen Syntheseweg zum Aufbau von **25b**. Ausgehend von der Carbonsäure **27** und dem Amid **28** wurde zunächst versucht, die Imidverbindung **31** zu synthetisieren. Ausgehend von diesem Grundgerüst sollte dann in weiteren Schritten das Polyamin **25b** aufgebaut werden.

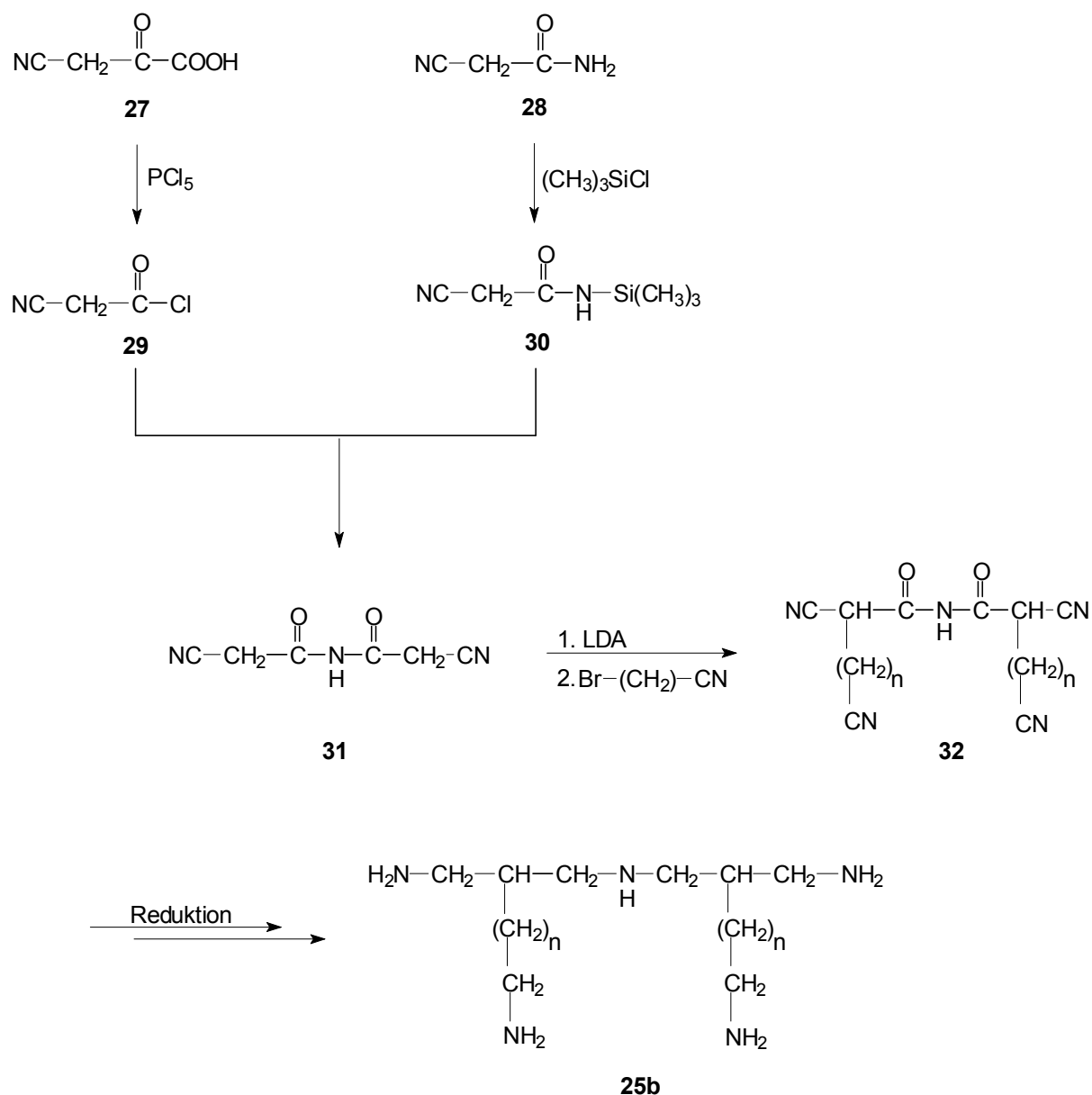
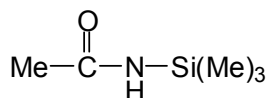
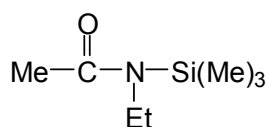
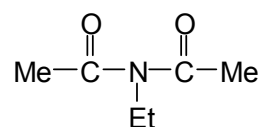


Abb. 33: Vollständiger Syntheseweg zur Darstellung des verzweigten Polyamins **25b**. Zunächst wurde versucht, das Imid **31** zu synthetisieren.

Nach der Vorschrift von DRAGO und KARSTETTER aus dem Jahre 1975. wurde zunächst das Säurechlorid **29** durch Umsetzung von Cyanessigsäure (**27**) mit Phosphor(V)-chlorid in 69 proz. Ausbeute erhalten.^[75] Um eine rasche Zersetzung zu vermeiden, wurde das Säurederivat **29** bei $-18\text{ }^\circ\text{C}$ unter Schutzgas aufbewahrt. Der Literaturvorschrift zufolge kam es nämlich bei einer Temperatur von $0\text{ }^\circ\text{C}$ innerhalb von acht Tagen zu einer vollständigen Zersetzung. Die Darstellung von *N*-Trimethylsilyl-2-cyanacetamid (**30**) gelang durch Umsetzung von **28** mit Trimethylchlorsilan in Acetonitril als Lösungsmittel. Bei insgesamt drei Ansätzen variierten die Ausbeuten zwischen 74

und 93%. Bis auf das Lösungsmittel wurden zur Darstellung von **30** ähnliche Reaktionsbedingungen gewählt wie sie von DAVIES, HASSALL und HOPKINS 1973 zur Silylierung von *N*-Ethylacetamid beschrieben wurden.^[76] Ein entscheidender Faktor bei der Synthese von **30** stellte schließlich die Wahl des Lösungsmittels dar, denn aufgrund der Löslichkeit von **28** konnte nur auf wenige Lösungsmittel wie Dimethylformamid, Dioxan und Acetonitril zurückgegriffen werden. Alle Versuche in DMF und Dioxan führten jedoch zu keinem erfolgreichen Ergebnis, in keinem Fall konnte das Silylamid **30** erhalten werden. Zudem waren die meist braun gefärbten Rückstände nach der Aufbereitungsphase sehr stark verunreinigt. Die Reaktionen in Acetonitril hingegen führten zum Erfolg. In Gegenwart von Triethylamin wurde das Silylamid **30** nach Abziehen des Lösungsmittels zunächst als violett gefärbtes Öl erhalten, das nach weiterem Trocknen unter Vakuum (ca. 2-3 hPa) zu einem wachsartigen Feststoff erstarrte. Das Rohprodukt zeigte allerdings noch Verunreinigungen von Triethylamin, so dass weitere Reinigungsschritte folgten. Versuche zur Umkristallisation in trockenem Diethylether brachten nicht die gewünschte Reinheit; stets wurden zu hohe Werte für Kohlenstoff, Wasserstoff und Stickstoff gefunden. Das Rohprodukt konnte schließlich durch Sublimation (65°C, 0.5-0.7 hPa) vollständig gereinigt werden.

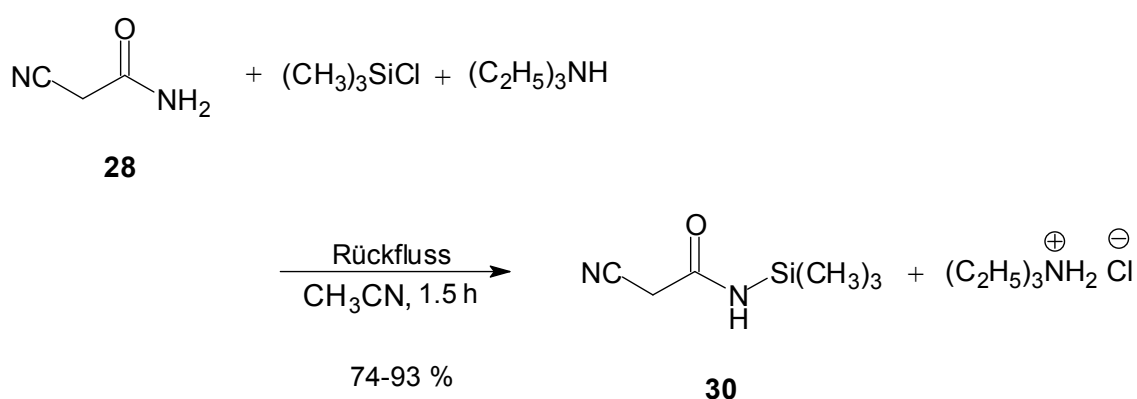
Um die Darstellung des Imids **31** zu erleichtern, wurde nicht von Cyanacetamid (**28**) ausgegangen, sondern durch vorherige Überführung in die Silylverbindung **30** sollte die Amidfunktion aktiviert werden, so dass die anschließende Reaktion mit dem Säurechlorid **29** wesentlich leichter ablaufen sollte. Die Variante über die Silylierung ist allgemein bekannt und wurde bereits erfolgreich zur Darstellung von Imiden angewandt.

**33****34****35**

DAVIES, HASSALL und HOPKINS gelang so 1973 in ähnlicher Weise die Darstellung von *N*-Ethyl-Diacetamid (**35**).^[76] Ausgehend von *N*-Ethylacetamid und Trimethylchlorsilan erhielten sie in 90 proz. Ausbeute zunächst das Silylamid **34**, das in einem darauf folgenden Schritt durch Umsetzung mit Acetylchlorid in das Diacetamid **35** überführt

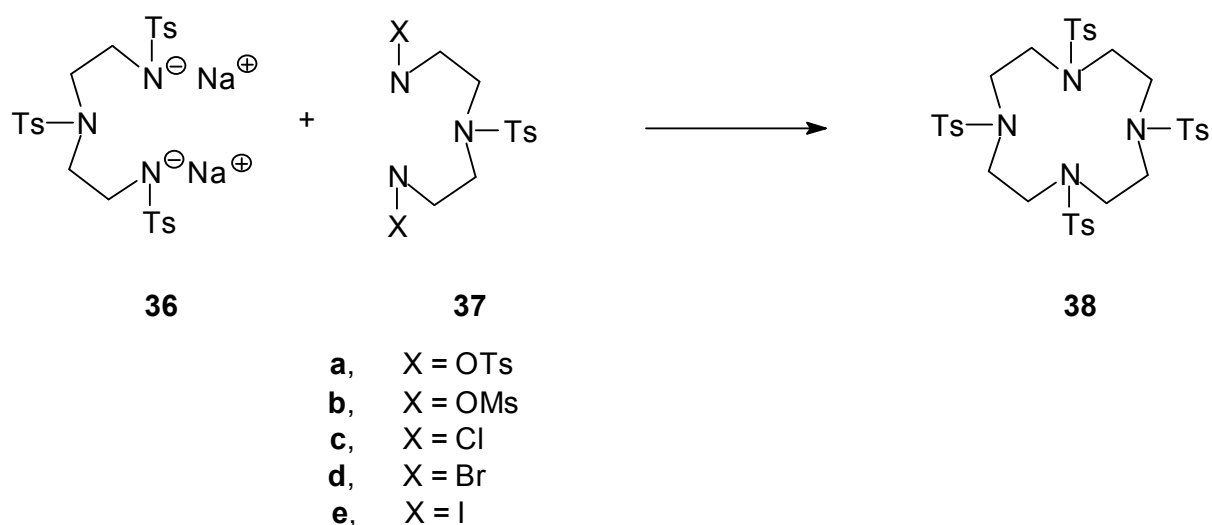
werden konnte (Ausbeute 93%). Das unsubstituierte Amid **33** wurde drei Jahre zuvor von BOKSANYI, LIARDON und KOVATS beschrieben.^[77] Unter vergleichbaren Bedingungen erhielten sie **33** mit einer Ausbeute von 82% als glasklare Flüssigkeit.

Bis auf die Wahl des Lösungsmittels ist in der Darstellung von *N*-Trimethyl-2-cyanacetamid (**30**) gleichermaßen vorgegangen worden. Als Base wurde frisch destilliertes Triethylamin verwendet, um den bei der Reaktion freiwerdenden Chlorwasserstoff zu binden. Als Lösungsmittel diente Acetonitril.



Cyanessigsäurechlorid (**27**) und *N*-Trimethyl-2-cyanacetamid (**30**) dienen als Ausgangssubstanzen zur Synthese der Imidverbindung **31** (vgl. Abb. 33). Ähnlich wie bei der Darstellung von *N*-Ethyldiacetamid (**35**) aus Acetylchlorid und **34** sollte die Synthese des Imids **31** durch Umsetzung beider Cyanoverbindungen **27** und **30** möglich sein. Entsprechende Versuche sind daher der nächste Schritt zum Aufbau von **25b**.

Mit insgesamt drei Heteroatomen ist 1,4,7-Triazacyklononan (**26**) der kleinste Vertreter unter den stickstoffhaltigen Makrozyklen. Die Synthese ist aufwendig und erfolgt meistens nach der Variante von RICHMAN und ATKINS aus dem Jahre 1974.^[78] Ausgehend vom Natriumsalz eines *p*-Toluolsulfonsäureamids erfolgt die Zyklisierung entweder mit einem terminalen Dihalogenalkan oder mit einem entsprechenden Ditosylat. Entscheidender Schritt bei der Darstellung derartiger Verbindungen ist immer die Zyklisierung, da die Ausbeuten sehr stark variieren können, je nachdem, welche Ausgangsverbindungen und Reaktionsbedingungen gewählt werden. RICHMAN und ATKINS konnten anhand zahlreicher Beispiele zeigen, dass Alkylhalogenide weitaus weniger geeignet sind als die entsprechenden Ditosylatverbindungen bzw. Mesylate. Das wird besonders deutlich am Beispiel von 1,4,7,10-Tetraazacyclododecan (Cyclen). Die Umsetzung von **36** mit **37a** und **37b** in DMF lieferte in beiden Fällen den Makrozyklus **38** mit einer Ausbeute von 80%. Bei Verwendung der Halogenide **37c** – **37e** hingegen lagen die Ausbeuten deutlich darunter (42, 40 und 25%).



Die Detosylierung kann auf verschiedene Weise erfolgen. Meistens werden zur Entfernung der Tosylatgruppen konzentrierte Schwefelsäure oder Gemische aus Bromwasserstoffsäure (48 proz.) und Eisessig verwendet. Seltener dagegen wird die Hydrolyse mit konzentrierter Salzsäure durchgeführt.^[72,78]

Die Darstellung von 1,4,7-Triazacyklononan (**26**) erfolgte schließlich in ähnlicher Weise nach einer Vorschrift von STÖTZEL aus dem Jahre 1993.^[79] Die Reaktionen wurden allesamt soweit optimiert, dass nicht nur hohe Ausbeuten erzielt wurden, sondern auch von besonders großen Ansatzmengen problemlos ausgegangen werden konnte. Auf

konvergentem Wege wurden so bis zu 55 g des zyklischen Amins **26** gewonnen. Abb. 34 zeigt den vollständigen Syntheseweg zur Darstellung von **26**. Unter den Reaktionspfeilen sind die experimentellen Ausbeuten aufgeführt, während in Klammern darunter die entsprechenden Literaturdaten zu finden sind.

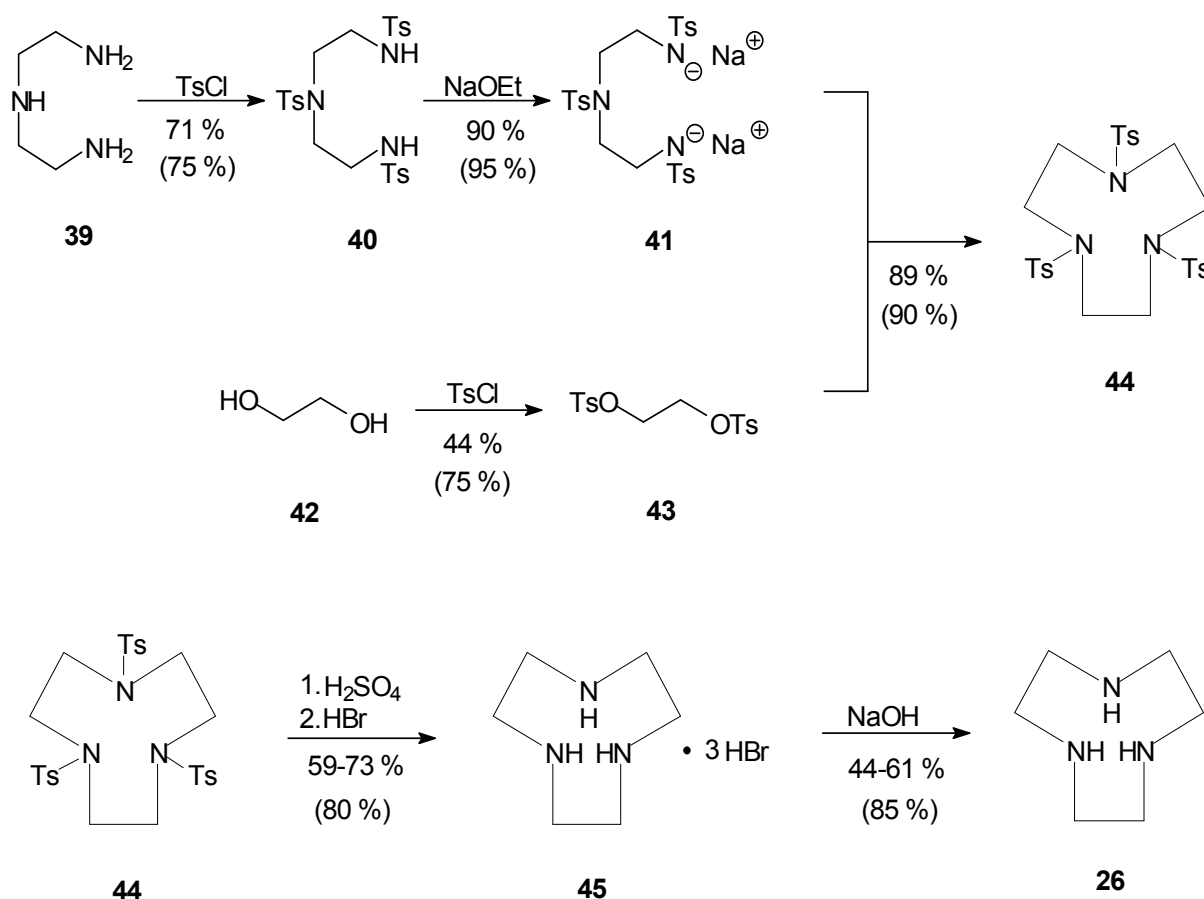
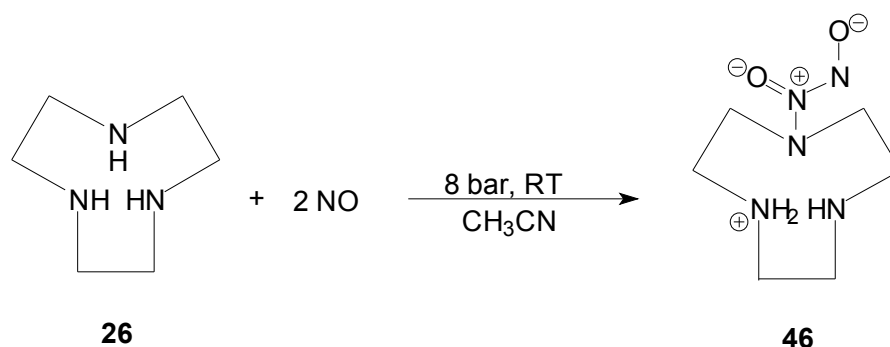


Abb. 34: Vollständiger Syntheseweg zur Darstellung von Triazacyclononan (**26**).

Ausgehend von Diethylentriamin (**39**) wurde über das Tritosylat **40** zunächst das Natriumsalz **41** dargestellt. Die Darstellung des Ditosylats **43** erfolgte in einem parallelen Schritt entsprechend durch Umsetzung von Ethylenglykol (**42**) mit *p*-Toluolsulfon-säurechlorid. Mit 44 % fiel die Ausbeute deutlich geringer aus als in der Literaturvorschrift angegeben.^[79] Die Zyklisierung gelang anschließend durch Umsetzung von **41** und **43** in DMF bei 100 °C nach einer Reaktionszeit von sechs Stunden (Ausbeute 89 %). Die darauf folgende Hydrolyse (Entfernung der Tosylatreste) von **44** erfolgte innerhalb von drei Tagen mit konzentrierter Schwefelsäure bei einer Temperatur von 100°C. Mithilfe einer eisgekühlten Ethanollösung wurde zunächst das Hydrosulfatsalz gewonnen, das anschließend durch Versetzen mit

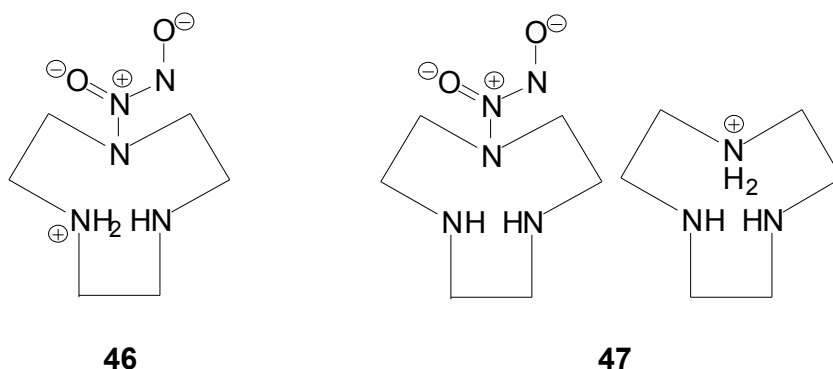
Bromwasserstoffsäure (48 proz.) leicht in das Hydrobromid **45** überführt werden konnte. Mit 59 % fiel die Ausbeute zunächst deutlich geringer aus als in der Literatur (80 %)^[79] angegeben. Durch Verwenden eines Bromwasserstoff/ Eisessig-Gemisches konnte diese schließlich auf 73 % erhöht werden. Vermutlich wurde die Löslichkeit von **45** in Bromwasserstoffsäure durch den Eisessig wieder herabgesetzt, so dass insgesamt auch mehr Salz isoliert werden konnte. Mithilfe von Natriumhydroxid folgte schließlich die Freisetzung zum Triamin **26**. Bei zwei Ansätzen variierten die Ausbeuten zwischen 44 und 61 %. Der Makrozyklus **26**, der zunächst als Rohprodukt vorlag, konnte durch Kugelrohrdestillation weiter gereinigt werden.^[80] Insgesamt lag die Ausbeute nach diesem Reinigungsschritt bei 15 %.

Die Umsetzung von 1,4,7-Triazacyclononan (**26**) mit Stickstoffmonoxid wurde insgesamt dreimal durchgeführt. Bei Raumtemperatur und unter Druck ($8 \cdot 10^5$ Pa) wurde der Makrozyklus ein oder zwei Tage in trockenem Acetonitril oder Tetrahydrofuran als Lösungsmittel mit Stickstoffmonoxid umgesetzt. Die Darstellung von Triazacyclononan-NONOat (**46**) verlief einmal erfolgreich, während die darauf folgenden Ansätze keine *N*-Diazoniumdiolate lieferten. Nach dem Öffnen des Autoklaven lag in zwei Fällen eine farblose, klare Lösung vor. Mit einer Ausbeute von 26 % im ersten Ansatz wurde das NONOat **46** als farbloser Feststoff erhalten. Um einer möglichen Zersetzung vorzubeugen, wurde der Feststoff bei $-18\text{ }^{\circ}\text{C}$ unter Schutzgas aufbewahrt. Die Verbindung ist leicht wasserlöslich, unlöslich dagegen in protischen Lösungsmitteln wie Methanol und Ethanol.



Bei der Umsetzung von **26** mit NO sind zwei verschiedene Produkte denkbar. Einerseits kann es zur Bildung des intramolekular stabilisierten Salzes **46** kommen, andererseits kann der Ladungsausgleich aber auch intermolekular in Form von **47** erfolgen. Zudem sind auch Gemische daraus denkbar. Die Elementaranalyse deutet auf einen grossen

Überschuss an intramolekular stabilisierten Salz hin. Der Kohlenstoff- und Wasserstoffgehalt stimmen mit den berechneten Werten für **46** überein, lediglich der Stickstoffgehalt weicht davon ab. Im Falle des intermolekular stabilisierten Salzes würde man deutlich höhere Werte für Kohlenstoff und Wasserstoff finden, während der Stickstoffgehalt entsprechend geringer ausfallen würde.



	46	47	
Element	ber.	ber.	gef.
C	38.07	45.25	38.18
H	8.00	9.51	7.99
N	37.01	35.19	35.78

Zur weiteren Identifizierung folgten ^1H -NMR- und ^{13}C -NMR-spektroskopische Untersuchungen. Da NONOate in neutraler Lösung spontan zerfallen, wurde zur Aufnahme der Spektren eine stark alkalische Lösung ($5.75 \text{ mol}\cdot\text{L}^{-1}$ NaOD in D_2O) verwendet. Bei der Interpretation der Spektren muss stets berücksichtigt werden, dass **46** und **47** in alkalischer Lösung nicht in Form der Ammoniumsalze, sondern vollständig deprotoniert vorliegen. Entspräche der isolierte Feststoff der Verbindung **47**, in alkalischer Lösung in deprotonierter Form, so würde man insgesamt vier Signale erwarten. Aufgrund der Diazeniumdiolat-Gruppe sowie der Symmetrie des Anions sollten zwei Triplets sowie ein Singulett mit einem Intensitätsverhältnis von 1:1:1 auftreten. Darüber hinaus würde man ein weiteres Singulett für die sechs Methylengruppen des Amins finden. Insgesamt würde man im ^1H -NMR-Spektrum von

47 vier Signale im Verhältnis 1:1:1:3 erwarten. Im Falle der intramolekularen Form **46** würde man jedoch nur drei Signale erwarten, ein Triplett für die CH₂-Gruppen, die in direkter Nachbarschaft zur NONO-Gruppe stehen, ein weiteres Triplett für die nachfolgenden Methylengruppen sowie ein Singulett für die vier restlichen CH₂-Gruppen. Bei jeweils vier Protonen sollten die Signale in einem Intensitätsverhältnis von 1:1:1 auftreten.

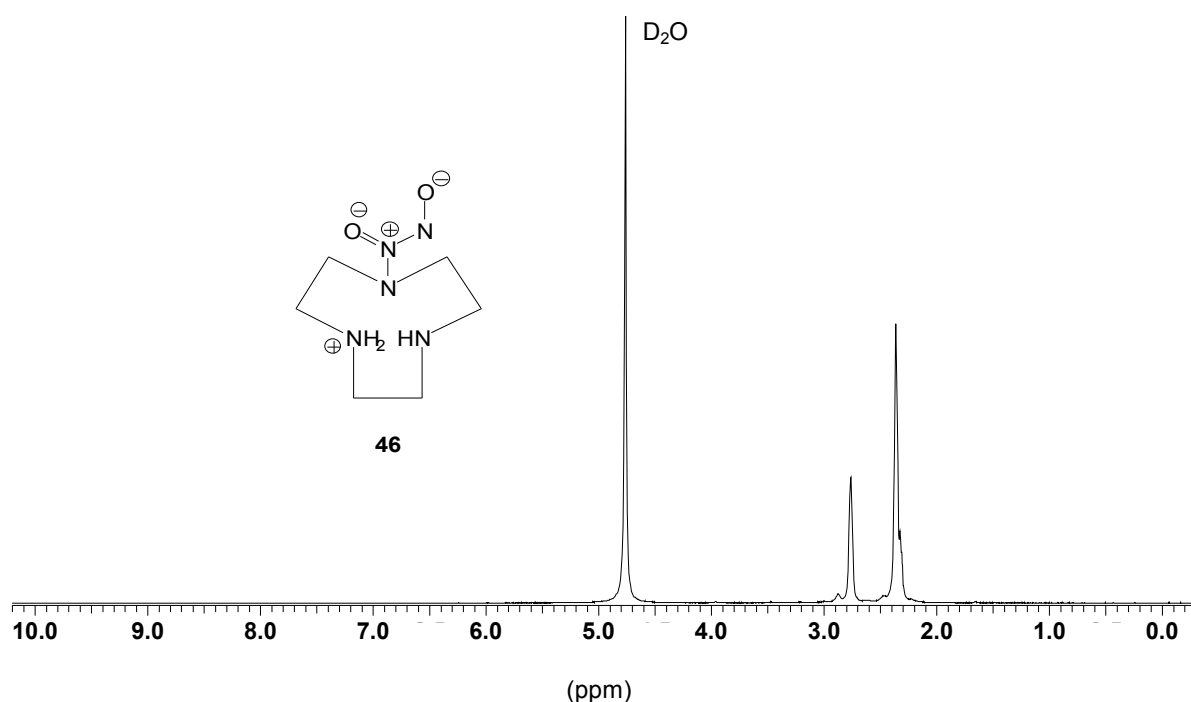


Abb. 35: ¹H-NMR-Spektrum (500 MHz) von Triazacyclononan-NONOat (**46**) in 5.75 mol·L⁻¹ NaOD in D₂O.

Das ¹H-NMR-Spektrum zeigt zwei breite Singulettts bei $\delta = 2.76$ und $\delta = 2.36$ ppm. Beide Signale stehen im Verhältnis 1:2.8 zueinander und sind aufgrund der hohen NaOD-Konzentration nicht gut aufgelöst. Das Spektrum folgt den Annahmen aus der Elementaranalyse und zeigt, dass es bei der Umsetzung von **26** mit Stickstoffmonoxid zur Bildung des intramolekular stabilisierten Salzes **46** gekommen ist. Das breite Singulett bei $\delta = 2.76$ ppm, das bei guter Auflösung als Triplett erscheinen sollte, kann den direkt zur NONO-Gruppe benachbarten Methylengruppen zugeordnet werden, während das zweite Signal bei höherem Feld ($\delta = 2.36$ ppm) von den anderen acht CH₂-Gruppen herrührt. Wäre das Signal bei $\delta = 2.36$ ppm besser aufgelöst, so würde man ein Singulett und ein weiteres Triplett erwarten. Zusammen betrachtet sollte deren Intensität doppelt so hoch gegenüber dem tieffeldverschobenen Signal sein. Das

Intensitätsverhältnis (1:2.8) fällt jedoch höher aus, so dass vermutlich neben dem NONOat **46** noch Ausgangsamin **26** vorhanden war. Das ^{13}C -NMR-Spektrum scheint das zu bekräftigen und liefert diesbezüglich einige Hinweise. Es zeigt insgesamt vier Signale. Drei intensive Signale treten bei $\delta = 46.48$ ppm, $\delta = 47.52$ ppm und $\delta = 53.97$ ppm auf, eine Anzahl, die aufgrund der Symmetrie der deprotonierten Form **46** auch erwartet wird. Das weniger intensive Signal bei $\delta = 48.45$ ppm stammt offensichtlich vom Ausgangsamin **26**, denn auch hier würde man nur ein zusätzliches Signal erwarten.

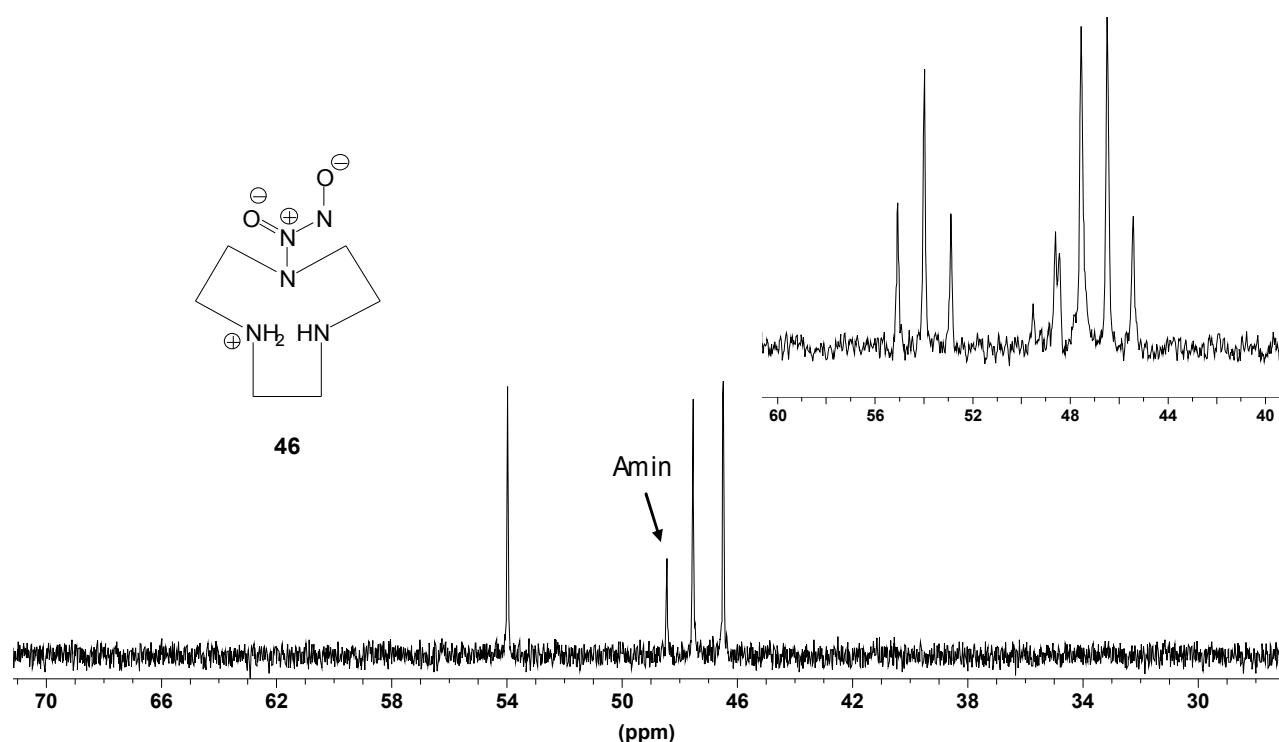


Abb. 36: ^{13}C -NMR-Spektrum (125 MHz) von Triazacyclononan-NONOat (**46**) in $5.75 \text{ mol}\cdot\text{L}^{-1}$ NaOD in D_2O . Als Insert das nicht entkoppelte ^{13}C -NMR-Spektrum.

Zusätzlich zum ^1H -breitband-entkoppelten ^{13}C -NMR-Spektrum wurde auch das gekoppelte ^{13}C -NMR-Spektrum betrachtet. Es zeigt erwartungsgemäß drei Triplets, eins bei $\delta = 53.97$ ppm mit $^2J = 136$ Hz sowie zwei weitere bei $\delta = 47.54$ ppm mit $^2J = 133$ Hz und $\delta = 46.48$ ppm mit $^2J = 135$ Hz. Die Lage der Triplets zeigt zudem, dass alle Methylengruppen an Heteroatomen gebunden sind. Ist dagegen eine Methylengruppe zwischen zwei Kohlenstoffatomen gebunden, so erwartet man ein Signal im Bereich zwischen 15 – 45 ppm.

Zuletzt erfolgte eine UV-spektroskopische Untersuchung. Gemäß den Erwartungen zeigt das Spektrum die für *N*-Diazeniumdiolate charakteristische Absorptionsbande mit einem Maximum bei $\lambda_{\text{max.}} = 252 \pm 1 \text{ nm}$ ($\lg \varepsilon = 3.89$).

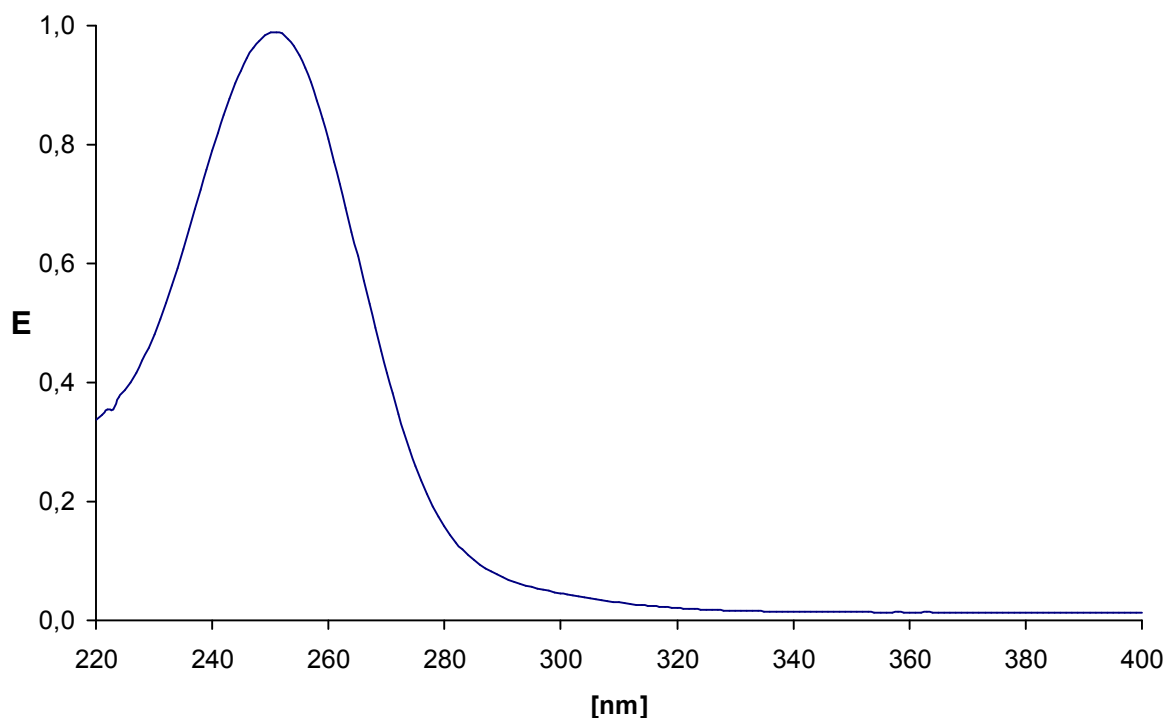


Abb. 37: UV-Spektrum des NONOats **46** (0.131 mM; Einwaage bezogen auf **46**) in 0.01 M NaOH bei 23 °C. Das Spektrum zeigt ein für *N*-Diazeniumdiolate charakteristisches Maximum bei $\lambda_{\text{max}} = 252 \text{ nm}$ ($\lg \varepsilon = 3.89$, berechnet auf reines **46**).

Im Anschluss an die UV-Messung wurde der Zerfall von **46** unter physiologischen Bedingungen (pH 7.4, 37°C) untersucht. Dazu wurde die Abnahme der Extinktion bei $\lambda_{\text{max}} = 252 \text{ nm}$ in Abhängigkeit von der Zeit verfolgt, so dass aus der zeitlichen Abnahme der Extinktion *E* dann die Werte für die Geschwindigkeitskonstante *k* und die Halbwertszeit $t_{1/2}$ ermittelt werden konnten. Als Pufferlösung diente ein Gemisch aus Dinatrium-hydrogenphosphat und Kaliumdihydrogenphosphat (0.1 M; pH 7.36 ± 0.03). Die NONOat-Konzentration lag bei 0.112 mM. Abb. 38 zeigt die zeitliche Abnahme der Extinktion bei $\lambda_{\text{max}} = 252 \text{ nm}$. Unter physiologischen Bedingungen wurde eine Geschwindigkeits-konstante von $k = (4.58 \pm 0.07) \cdot 10^{-4} \text{ s}^{-1}$ erhalten. Die Halbwertszeit liegt damit bei $t_{1/2} = 25.4 \pm 0.4 \text{ min}$.

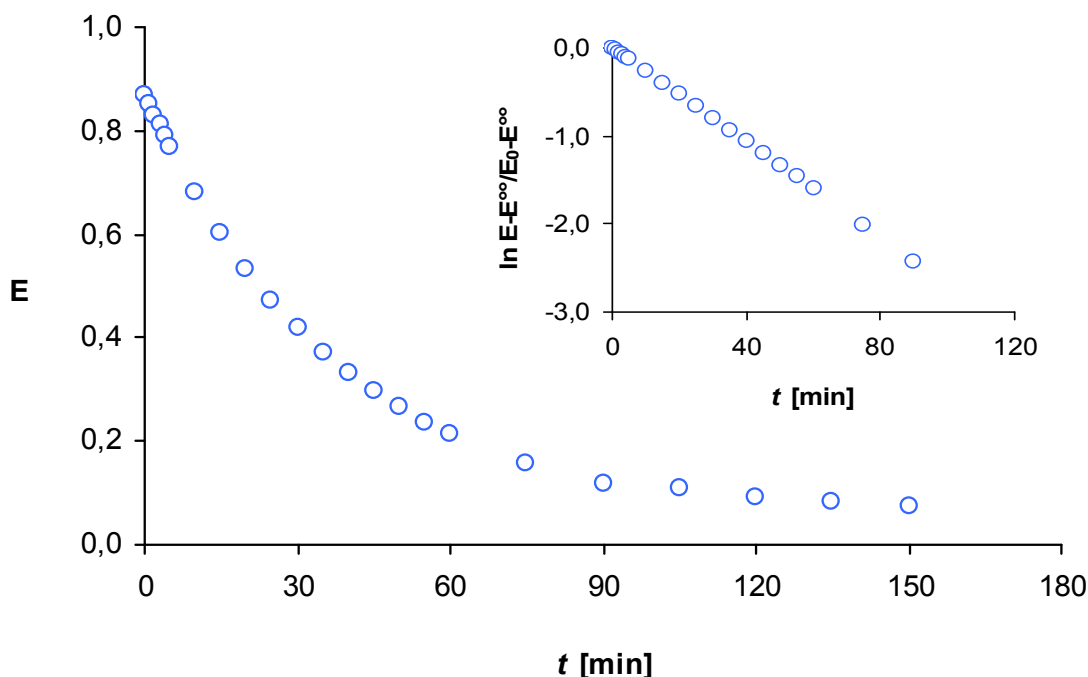


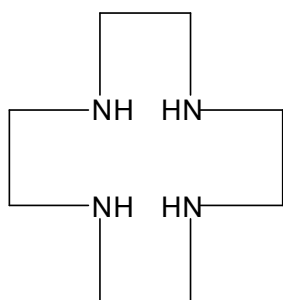
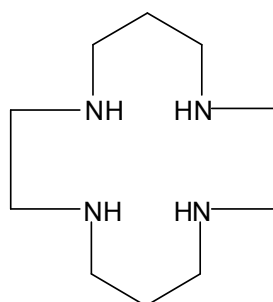
Abb. 38: Zeitliche Abnahme der Extinktion bei $\lambda_{\max} = 252$ nm für das Triazacyclononan-NONOat (**46**) in Phosphatpufferlösung (pH 7.36 ± 0.03) bei 37 ± 1 °C. Die linearisierte Form liefert den Ausdruck $\ln E - E^{\infty} / E_0 - E^{\infty} = -0.025 \cdot t [\text{min}^{-1}] + 0.006$ mit $R^2 = 0.9990$.

4.1 Zusammenfassung und Ausblick

Die Darstellung der symmetrischen Imidverbindung **31** war ein Ziel der in Kapitel 4 diskutierten Synthesestrategien. Auf konvergentem Wege wurde zuerst das literaturbekannte Säurechlorid **29** mit einer Ausbeute von 69 % erhalten. Zur Darstellung von *N*-Trimethylsilyl-2-cyanacetamid (**30**) wurde von Cyanacetamid (**28**) ausgegangen. Dessen Synthese erfolgte durch Umsetzung mit Trimethylchlorsilan in Acetonitril als Lösungsmittel. Entscheidender Faktor bei der Synthese von **30** war das Lösungsmittel, denn wegen der Löslichkeit von **28** konnte nur auf Lösungsmittel wie Dimethylformamid, Dioxan oder Acetonitril zurückgegriffen werden. Silylierungen werden aber vorzugsweise in aromatischen Lösungsmitteln wie Benzol oder Toluol durchgeführt. DMF und Dioxan waren ungeeignet und führten zu keinem Erfolg. Erst in Acetonitril konnte das Silylamid **30** in akzeptablen Ausbeuten (74 – 93 %) rein erhalten werden. Der Synthesestrategie zufolge erfolgt der Aufbau des verzweigten Polyamins **25b** über die Imidverbindung **31**. Ausgangsverbindungen zur Darstellung von **31** sind das Säurechlorid **29** und das Silylamid **30**, die beide erfolgreich synthetisiert werden

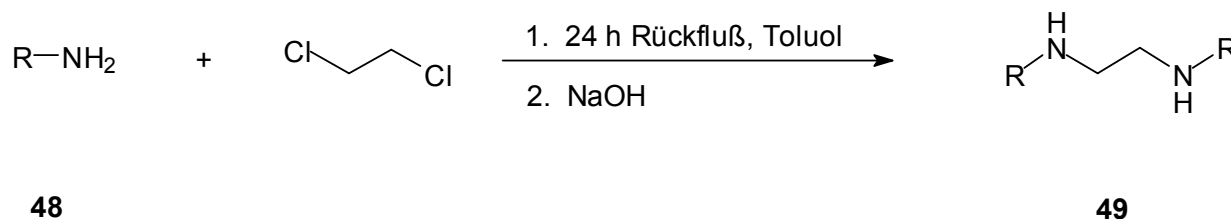
konnten. Zukünftige Versuche sollten dazu dienen, die Imidverbindung **31** zu synthetisieren.

Die Umsetzung von Triazacyclononan (**26**) mit Stickstoffmonoxid führte zum intramolekular stabilisierten Salz **46**. Für den Zerfall unter physiologischen Bedingungen ergaben UV-spektroskopische Untersuchungen eine Geschwindigkeitskonstante von $k = (4.58 \pm 0.07) \cdot 10^{-4} \text{ s}^{-1}$ und eine Halbwertszeit von $t_{1/2} = 25.4 \pm 0.4 \text{ min}$. Weitere, kinetische Untersuchungen, sollten auch in Gegenwart von natürlichen und Modellrezeptoren durchgeführt werden, denn ähnlich wie bei den NONOaten der aliphatischen Amine, sollte auch bei den zyklischen Vertretern eine bestimmte Konformation zur Stabilisierung beitragen. Erst durch Wechselwirkung mit den Rezeptoren wird eine Destabilisierung erwartet, so dass Stickstoffmonoxid selektiv freigesetzt wird. Als mögliche Wechselwirkungen kommen dann ionische oder Wasserstoffbrückenbindungen in Betracht. Durch Umsetzung von **26** mit Stickstoffmonoxid war das NONOat **46** zugänglich. Ähnliche NONOate wären auch für andere, zyklische Amine von Interesse. Als Ausgangsverbindungen könnten dann die literaturbekannten Amine 1,4,7,10-Tetraazacyclododecan (**Cyclen**) oder 1,4,8,12-Tetraazacyclotetradecan (**Cyclam**) dienen.

**Cyclen****Cyclam**

5 Darstellung und Charakterisierung der hydrophoben Diamine 49a – 49c und deren *N*-Diazeniumdiolate (NONOate)

5.1 Alkylierung: Darstellung von *N,N'*-Di-*n*-butyl- (49a), *N,N'*-Di-*n*-hexyl- (49b) und *N,N'*-Di-*n*-octylethyldiamin (49c)



48a, 49a R = (CH₂)₃CH₃ **46 %**; Lit.^[84] : 86 %

48b, 49b R = (CH₂)₅CH₃ **48 %**

48c, 49c R = (CH₂)₇CH₃ **40 %**

Symmetrisch substituierte *N,N'*-Dialkylethyldiamine der Form **49** sowie deren Derivate sind über eine Reihe von Methoden leicht zugänglich.^[81-84] Häufig angewandte Reaktionen sind dabei die

- Umsetzung von Ethylendichlorid oder Ethylendibromid mit einem Überschuss an Alkylamin,
- Umsetzung von Ethylendiamin mit Alkylhalogeniden in Gegenwart von Base
- Reduktion einer entsprechenden Schiff'schen Base,
- Hydrolyse entsprechender Benzol- bzw. *p*-Toluolsulfonsäure-Derivate (vgl. Hinsberg-Reaktion)

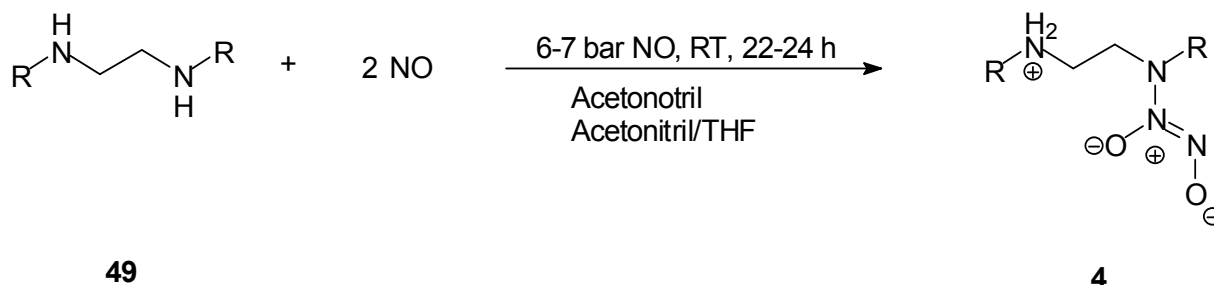
Während es sich bei den ersten beiden Methoden um Einstufensynthesen handelt, umfassen die letzteren Varianten mindestens zwei Stufen. Der Reduktion der Schiff'schen Base geht immer eine Kondensationsreaktion zwischen einem Aldehyd und einem Amin voraus. Die Hinsberg-Variante hingegen umfasst in der Regel drei Stufen: Tosylierung, Alkylierung und Hydrolyse.

Methoden zur Darstellung der sekundären Diamine **49a** – **49c** sind seit über 50 Jahren bekannt. Eine überwiegende Anzahl findet man in älteren Publikationen aus den 1940er und 1950er Jahren.^[81-83] Die erstmalige Darstellung des Butyl-Derivates **49a** gelang BOON im Jahre 1947 über das entsprechende *N,N'*-Di-*p*-toluolsulfonsäure-Derivat.^[81] Dessen Alkylierung und darauf folgende Hydrolyse in schwefelsaurer Lösung lieferte das Diamin **49a** mit einer Ausbeute von 80%. Eine modernere Methode zur Darstellung von *N,N'*-Di-*n*-butylethyldiamin (**49a**) stammt von WILSON et al. aus dem Jahre 1965.^[84] Sie erhielten in 82 %iger Ausbeute das Diamin **49a** durch die Alkylierung von *n*-Butylamin mit Ethylendichlorid in Benzol. BRUNO, CHABEREK und MARTELLI berichteten 1956 über die erfolgreiche Synthese verschiedener *N*-substituierter Ethylendiamine.^[82] So erhielten sie bei der Darstellung von *N-n*-butyl-, *N*-benzyl-, *N-n*-octyl und *N-n*-dodecylethyldiamin auch die symmetrisch disubstituierten Amine mit Ausbeuten zwischen 8 und 18%. VYAS und DHOPATE beschrieben gegen Ende der 1950er Jahre die Synthese einer Reihe von *N,N'*-Dialkylethyldiaminen in Form ihrer Hydrochloride.^[83] Nach der Hinsberg-Reaktion wurden zunächst die Amine **48a** – **48c** in die entsprechenden *N,N'*-Di-*p*-toluolsulfon-säure-Derivate überführt. In einem darauf folgenden Schritt wurden diese dann in Gegenwart von Kaliumhydroxid mit den entsprechenden Alkyljodiden umgesetzt. Abschließende Hydrolyse in konzentrierter Schwefelsäure lieferte schließlich die substituierten Diamine **48a** – **48c**. Alle wurden in Form ihrer Hydrochloride isoliert und charakterisiert.

Um mehrstufige Synthesen zu vermeiden, wurde die Methode von WILSON et al. aus dem Jahre 1965 verwendet.^[84] Im Gegensatz zur divergenten Folge aus Tosylierung, Alkylierung und Hydrolyse umfasste diese Variante nur eine einzige Stufe, bei der die Amine zugleich auch als freie Basen erhalten wurden. Das oftmals aufwendige Überführen der Hydrochloride oder Hydrobromide in die freien Basen konnte so gänzlich umgangen werden. Ausgehend von den primären Alkylaminen **48a** – **48c** und Ethylendichlorid wurden die substituierten *N,N*-Dialkylamine **49a** – **49c** als farblose Flüssigkeiten mit Ausbeuten zwischen 40 und 50 % erhalten. Entsprechend der Literaturvorschrift lagen die Edukte in fünffachem Überschuss gegenüber dem Alkylhalogenid vor. Als Lösungsmittel diente Toluol, das anstelle von Benzol verwendet wurde. Alle Diamine mussten nach der Destillation unter Schutzgasatmosphäre aufbewahrt werden, da in Gegenwart von Luftfeuchtigkeit kristalline Hydrate gebildet werden.^[82] WILSON et al. beschrieben zwar nur die Darstellung von **49a**, dennoch wurde

diese Methode aufgrund der leichten Durchführbarkeit auch zur Darstellung von **49b** und **49c** angewendet. Im Vergleich zur Literaturvorschrift fällt die Ausbeute für **49a** zwar geringer aus, dennoch war das akzeptabel, da zum einen alle Edukte kostengünstig und leicht zugänglich waren, zum anderen war diese Variante allgemein auch für die Amine **49b** und **49c** anwendbar.

5.2 Umsetzung von *N,N'*-Dimethylethyldiamin (**49d**), *N,N'*-Di-*n*-butylethyldiamin (**49a**), *N,N'*-Di-*n*-hexylethyldiamin (**49b**) und *N,N'*-Di-*n*-octylethyldiamin (**49c**) mit Stickstoffmonoxid (NO)



49a, 4a R = (CH₂)₃CH₃ (16 %)

49b, 4b R = (CH₂)₅CH₃ (54 %)

49c, 4c R = (CH₂)₇CH₃ (48 %)

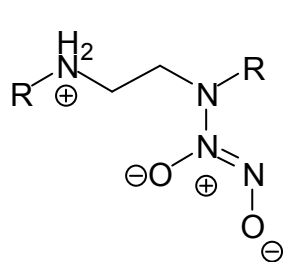
49d, 4d R = CH₃ (15 %, Lit.^[33]=46 %)

Die Reaktionen der Amine **49a** – **49d** mit Stickstoffmonoxid erfolgten unter Druck (6·10⁵ Pa) bei Raumtemperatur in trockenem Acetonitril bzw. einem Gemisch aus Acetonitril und Tetrahydrofuran (1:1/V:V) als Lösungsmittel. Für die höher substituierten Amine **49a** - **49c** wurden jeweils zwei Ansätze durchgeführt. Die Darstellung von **4d** dagegen ist literaturbekannt und erfolgte in einem einzigen Ansatz bei 6·10⁵ Pa. Die Reaktionszeiten variierten bei allen Umsetzungen im Bereich zwischen 22 und 24 Stunden. Als Reaktionprodukte wurden in allen Fällen farblose Feststoffe erhalten, die unter Zersetzung schmelzen. Die NONOate **4a** – **4d** zeigen je nach Länge der Alkylketten ein unterschiedliches Lösungsverhalten. Während das Methyl-NONOat **4d** (**DMEED/NO**) bereits in Wasser löslich ist, kann das Butyl-NONOat **4a** (**DNBUED/NO**) nur in verdünnter Natronlauge (0.1 M) vollständig gelöst werden. Für die beiden höher substituierten NONOate **4b** und **4c** sind Gemische aus Wasser und Methanol bzw. Methanol notwendig. So löst sich das Hexyl-NONOat **4b** (**DNHXED/NO**) in 0.1 M NaOH in Methanol/Wasser (1:1/ V:V) vollständig. Für das Octyl-NONOat **4c** (**DNOCED/NO**) hingegen gelingt dies nur mit 0.1 M NaOH in Methanol. Alle Lösungen sind farblos und klar. Die Reaktionsprodukte sind über einen Zeitraum von mehreren Tagen thermisch stabil, denn alle NONOate zeigten auch nach 2-3 Tagen keine

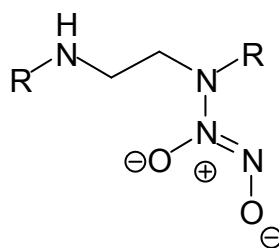
Zersetzungserscheinungen, und das sowohl unter Schutzgas als auch unter Luft. Um dennoch eine mögliche Zersetzung zu vermeiden, wurden alle Feststoffe vorsichtshalber unter Schutzgas bei einer Temperatur von -18 °C aufbewahrt.

5.3 Charakterisierung der hydrophoben NONOate mittels Elementaranalyse ¹⁵N-NMR-, IR- und UV-Spektroskopie

Als Reaktionsprodukte kommen zwei mögliche Verbindungen in Frage. Der Ladungsausgleich kann einerseits intramolekular in Form einer zwitterionischen Struktur (**intra**) erfolgen. Andererseits können die NONOate auch als intermolekulare Salze (**inter**) vorliegen. Den Elementaranalysen zufolge handelt es sich bei allen Verbindungen eindeutig um intramolekular stabilisierte *N*-Diazeniumdiolate. Die untere Tabelle stellt die gefundenen Werte für C, H und N den berechneten Werten gegenüber. Im Falle von intermolekularen Salzen würde man für alle NONOate einen wesentlich höheren Kohlenstoff- und Wasserstoffgehalt finden.



intra



inter

	R = <i>n</i> -Butyl			R = <i>n</i> -Hexyl			R = <i>n</i> -Octyl		
	inter	intra	gef.	inter	intra	gef.	inter	intra	gef.
C	61.07	51.68	51.73	65.07	58.28	58.41	68.74	62.73	62.80
H	12.11	10.43	10.13	12.48	11.20	11.23	12.82	11.72	12.45
N	19.42	24.12	23.92	15.26	19.42	18.78	13.36	16.26	16.05

Die NONOate fallen nach der Umsetzung mit Stickstoffmonoxid als farblose Feststoffe an. Die Reinigung der Donatoren **4a** – **4c** erfolgte nicht wie üblich durch Waschen mit

Diethylether, Tetrahydrofuran oder Acetonitril. Auch Lösungsmittel wie Methanol, Ethanol oder Isopropanol führten zu keinem Erfolg. Stets wurden zu hohe Abweichungen für Kohlenstoff, Wasserstoff und Stickstoff gefunden, so dass auf das Waschen mit organischen Lösungsmitteln zunächst ganz verzichtet wurde. Die Reinigung des Butyl-NONOats **4a** gelang schließlich mit 0,01 M NaOH-Lösung, während bei den anderen beiden NONOaten **4b** und **4c** 0.1 M NaOH zum Erfolg führte. Die Konzentration an NaOH in den Waschlösungen durfte jedoch nicht zu hoch gewählt werden denn das Butyl-NONOat **4a** beispielsweise löst sich vollständig in 0.1 M NaOH. Durch eine nicht zu hoch gewählte NaOH-Konzentration sollte weitgehend verhindert werden, dass auch die NONOate selbst beim Waschen gelöst werden. Gleiches gilt für die NONOate **4b** und **4c**. Vorsichtshalber wurde auch hier eine niedrige NaOH-Konzentration von 0.1 M gewählt.

Neben der ^1H -NMR- und ^{13}C -NMR-Spektroskopie bietet sich die ^{15}N -NMR-Spektroskopie an, um *N*-Diazeniumdiolate zu charakterisieren. Denn besonders die Stickstoffatome der Diazeniumdiolat-Gruppe sollten gegenüber den anderen Stickstoffatomen signifikant andere chemische Verschiebungen aufweisen. Da bisher keine ^{15}N -NMR-spektroskopischen Daten vorliegen, bot sich die Gelegenheit, zu untersuchen, ob und inwieweit die Methode zur eindeutigen Identifizierung beitragen kann. Die ^{15}N -NMR-Spektroskopie kann einen wichtigen Beitrag zur Strukturaufklärung liefern, da stickstoffhaltige funktionelle Gruppen und Atome in Molekülgerüsten weit verbreitet sind. Trotz der geringen relativen Empfindlichkeit hat sich die ^{15}N -NMR-Spektroskopie als Routinemethode etabliert.^[64] So können auch die NONOate **4a** – **4d** mithilfe dieser Methode leicht charakterisiert werden. Die Aufnahmen der Spektren erfolgten allesamt in stark alkalischer Lösung (2 M NaOD in D_2O bzw. CD_3OD), um eine Zersetzung während der Messzeiten zu vermeiden. Aufgrund der niedrigen Empfindlichkeit wurden für jede Messung etwa 100 mg NONOat gebraucht, zudem war eine Messzeit von 2.5 Tagen erforderlich. Alle Messungen erfolgten bei Raumtemperatur.

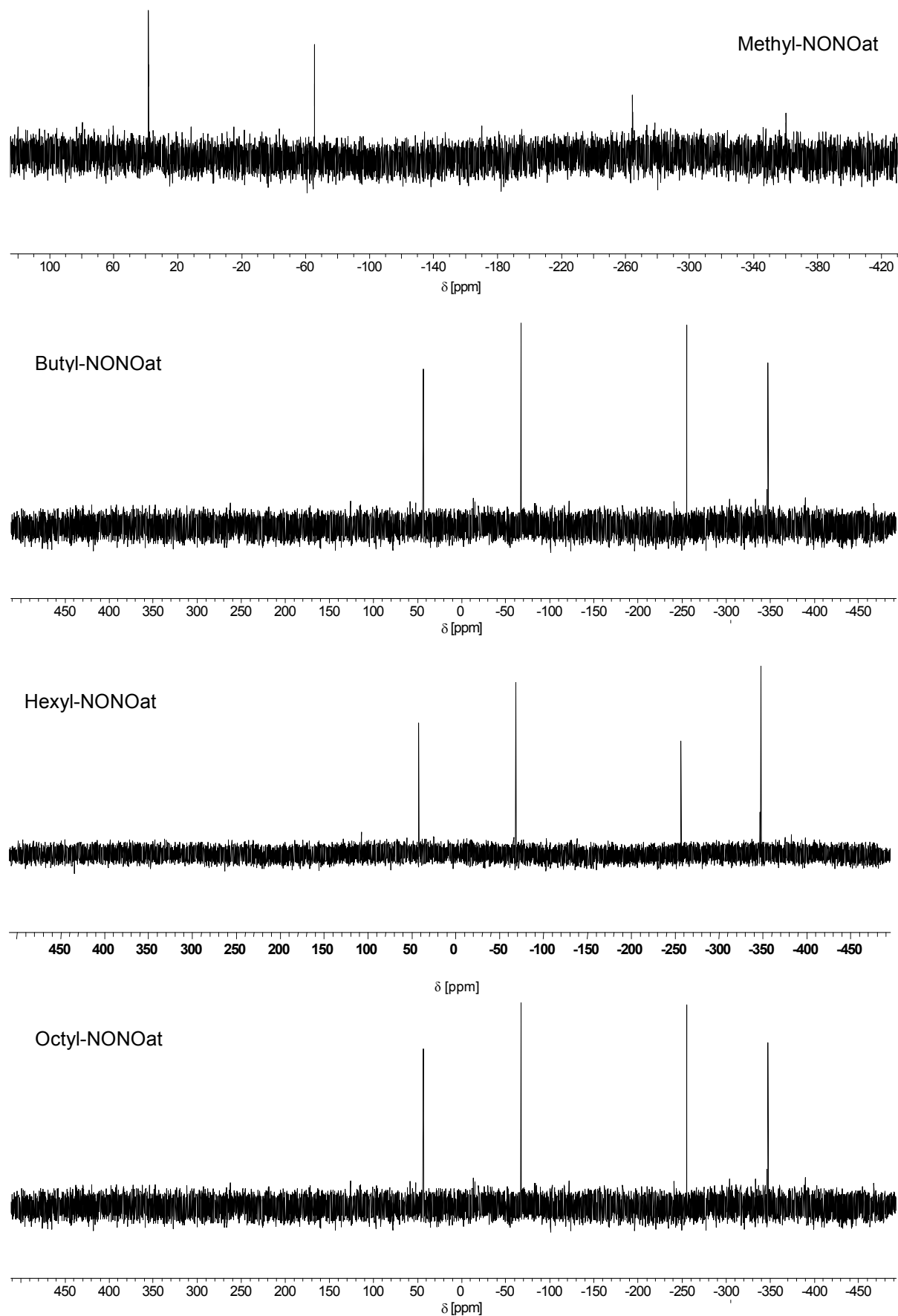
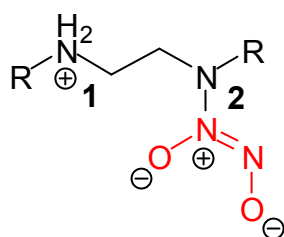


Abb. 39: ^{15}N -NMR-Spektrum der NONOate **4a** – **4d** in 2 M NaOD in D_2O , Standard: extern 90 % Formamid in $[\text{D}_6]$ -DMSO, 50.7 MHz.

Die ^{15}N -NMR-Spektren der NONOate **4a** – **4d** sind erwartungsgemäß durch vier Signale gekennzeichnet. Die Signale bei $\delta = 38.4, 43.4, 41.9$ und 41.9 ppm sowie bei $\delta = -65.4, -67.5, -68.8$ und -69.0 ppm werden den Stickstoffatomen der Diazeniumdiolat-Gruppe (**NONO**) zugeordnet. Für aliphatische Amine wie Ethylamin (-335 ppm), Isopropylamin (-338 ppm), Diethylamin (-334 ppm) oder Triethylamin (-332 ppm) liegen die ^{15}N -chemischen Verschiebungen deutlich unterhalb -300 ppm, so dass die vier Signale bei $\delta = -360.1, -347.3, -347.7$ und -347.6 ppm eindeutig der Position **N-1** zugeordnet werden können. Die bei tieferem Feld erscheinenden Signale bei $\delta = -264.5, -255.4, -256.7$ und -256.6 ppm können auf das zur **NONO**-Gruppe benachbarte Stickstoffatom **N-2** zurückgeführt werden, denn sauerstoffhaltige Verbindungen wie die Nitrosamine beispielsweise zeigen ähnliche Verschiebungswerte. So beobachtet man für Dimethylnitrosamin ($\text{CH}_3\text{N}-\text{NO}$) zwei Signale bei $\delta = -147$ und 156 ppm. Letzteres wird auf die Nitrosogruppe zurückgeführt, während das Signal bei $\delta = -147$ ppm vom anderen Stickstoffatom herrührt. Dessen chemische Verschiebung unterscheidet sich deutlich von denen, die für unsubstituierte, aliphatische Amine gefunden werden.^[64] Es bereitet Schwierigkeiten, eine genaue Zuordnung für die beiden Stickstoffatome der NONO-Gruppe zu treffen. Im Gegensatz zum Methyl-NONOat **4d** zeigen alle anderen NONOate **4a** – **4c** keine signifikanten Unterschiede in der Lage der Signale.

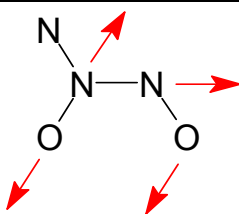
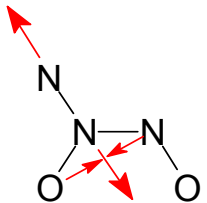
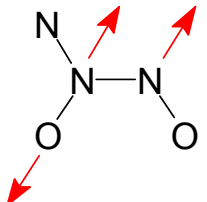
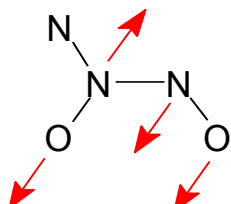
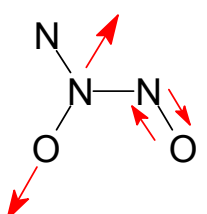


Tab. 2: ^{15}N -NMR-spektroskopische Daten für die NONOate **4a** – **4d** in 2 M NaOD in D_2O , Standard: extern 90 % Formamid in $[\text{D}_6]$ -DMSO (50.7 MHz)

	R = Methyl	R = <i>n</i> -Butyl	R = <i>n</i> -Hexyl	R = <i>n</i> -Octyl
N-1	-360.1	-347.3	-347.7	-347.6
N-2	-264.5	-255.4	-256.5	-256.6
NONO	-65.4	-67.5	-68.8	-69.0
NONO	38.4	43.4	41.9	41.9

Zur Charakterisierung der NONOate kann auch die IR-Spektroskopie herangezogen werden. Von DRAGO et al. stammen die ersten Untersuchungen. In ihren Arbeiten aus den Jahren 1960/61 werden NONOate erstmals anhand ihrer IR-Spektren charakterisiert.^[30,31] KEEFER et al. beschreiben dreißig Jahre später das Spermin-NONOat ebenfalls anhand eines IR-Spektrums.^[32] In ihrer Eigenschaft als Ammoniumsalze und aufgrund der Diazeniumdiolat-Gruppe sollten Polyamin-NONOate wie **4a** - **4d** charakteristische Absorptionen zeigen, so dass auch die IR-Spektroskopie zur Strukturaufklärung beitragen kann. Sekundäre Amine sind durch eine scharfe Bande bei 3335 cm^{-1} gekennzeichnet. Durch Protonierung wird diese Bande zu kleineren Wellenzahlen verschoben und erscheint unter Verbreiterung zwischen 3030 und 2630 cm^{-1} . Zusätzlich werden weitere Absorptionen zwischen 2500 und 2220 cm^{-1} erwartet. Ammoniumsalze können also im IR-Spektrum anhand eines breiten und intensiven Absorptionsgebietes erkannt werden, das sich insgesamt zwischen $3300 - 2000\text{ cm}^{-1}$ erstreckt.^[64,65] Von wesentlich höherem Interesse jedoch sind die Absorptionen, die für die NONO-Gruppe unterhalb 2000 cm^{-1} (*fingerprint*-Bereich) erwartet werden. Umfangreiche Daten hierzu stammen von Keefer et al. aus dem Jahre 2001, der sowohl das Natrium- $[\text{Na}^+\text{Et}_2\text{N}(\text{N}_2\text{O}_2)^-]$ (**A**) als auch das Ammoniumsalz $[\text{Et}_2\text{NH}_2^+\text{Et}_2\text{N}(\text{N}_2\text{O}_2)^-]$ (**B**) des Diethylamin-NONOates IR- und Raman-spektroskopisch untersucht hatte.^[85]

Tab. 3: Art der Schwingungen und Absorptionen, die für die NONO-Gruppe unterhalb 2000 cm^{-1} charakteristisch sind. Am Beispiel von Diethylamin-NONOat wurden das Natrium- (**A**) und das Ammoniumsalz (**B**) untersucht.

Art der Schwingung		IR [cm^{-1}] Raman [cm^{-1}]	
	in-plane symmetrische Valenzschwingung	A 952.2	935.8
		B 972.2	958.4
	in-plane symmetrische Valenzschwingung	A	1215.8
		B	1153.3
	O-N-N-O symmetrische Valenzschwingung	A 1384.4 B 1381.5	1359.3 1375.1
	O-N-N-O Deformationsschwingung		
	O-N-N-O asymmetrische Valenzschwingung		

Drei Absorptionsbanden sind für beide Salze **A** und **B** von besonderem Interesse. Zwei davon werden in den entsprechenden IR-Spektren beobachtet, während die dritte Bande nur mit Hilfe der Raman-Spektren zu finden ist.

Die IR-Spektren von **4a** - **4d** zeigen eindeutig die Valenz- und Deformationsschwingungen, die für die NONO-Gruppe charakteristisch sind. Absorptionen für die

Gruppe der O-N-N-O-Valenz- und Deformationsschwingungen findet man für alle NONOate **4a** – **4d**. Für das Methyl-NONOat **4d** bei 1392 cm^{-1} , Butyl-NONOat **4a** bei 1389 cm^{-1} , Hexyl-NONOat **4b** 1340 cm^{-1} sowie bei 1385 cm^{-1} für das Octyl-NONOat **4c**. Weniger eindeutig dagegen sind die *in-plane*-symmetrischen Valenzschwingungen. Aufgrund der Lage und der Intensität einiger, sehr eng nebeneinander liegender Absorptionsbanden ist eine eindeutige Zuordnung nicht möglich. Nur im Falle des Butyl-NONOats **4a** beobachtet man eine einzige Bande bei 941 cm^{-1} , die eindeutig dieser Schwingung zugeordnet werden kann.

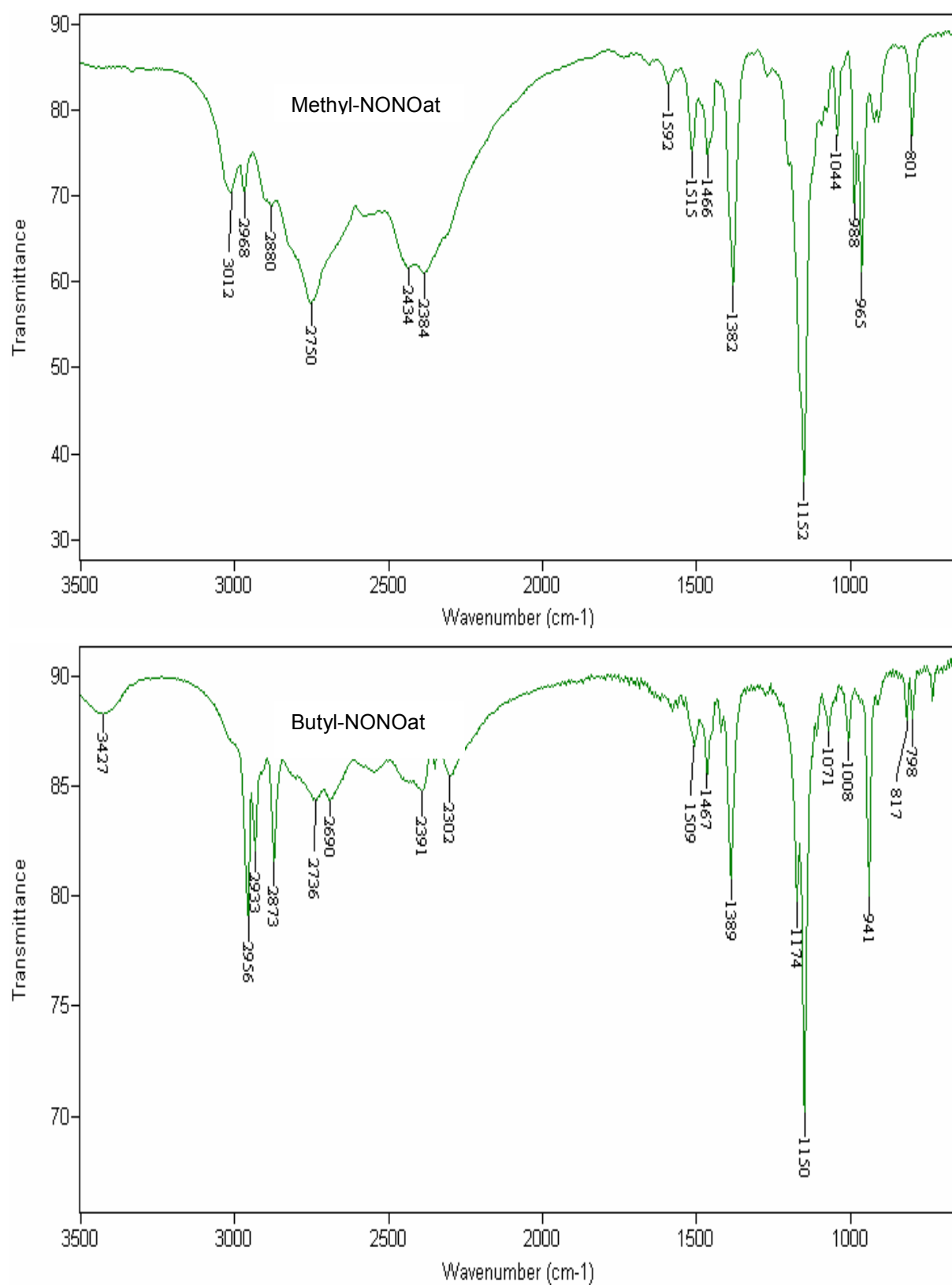


Abb. 40: IR-Spektren der Methyl- und Butyl-NONOate **4a** und **4d**. Die Aufnahmen erfolgten als KBr-Pressling.

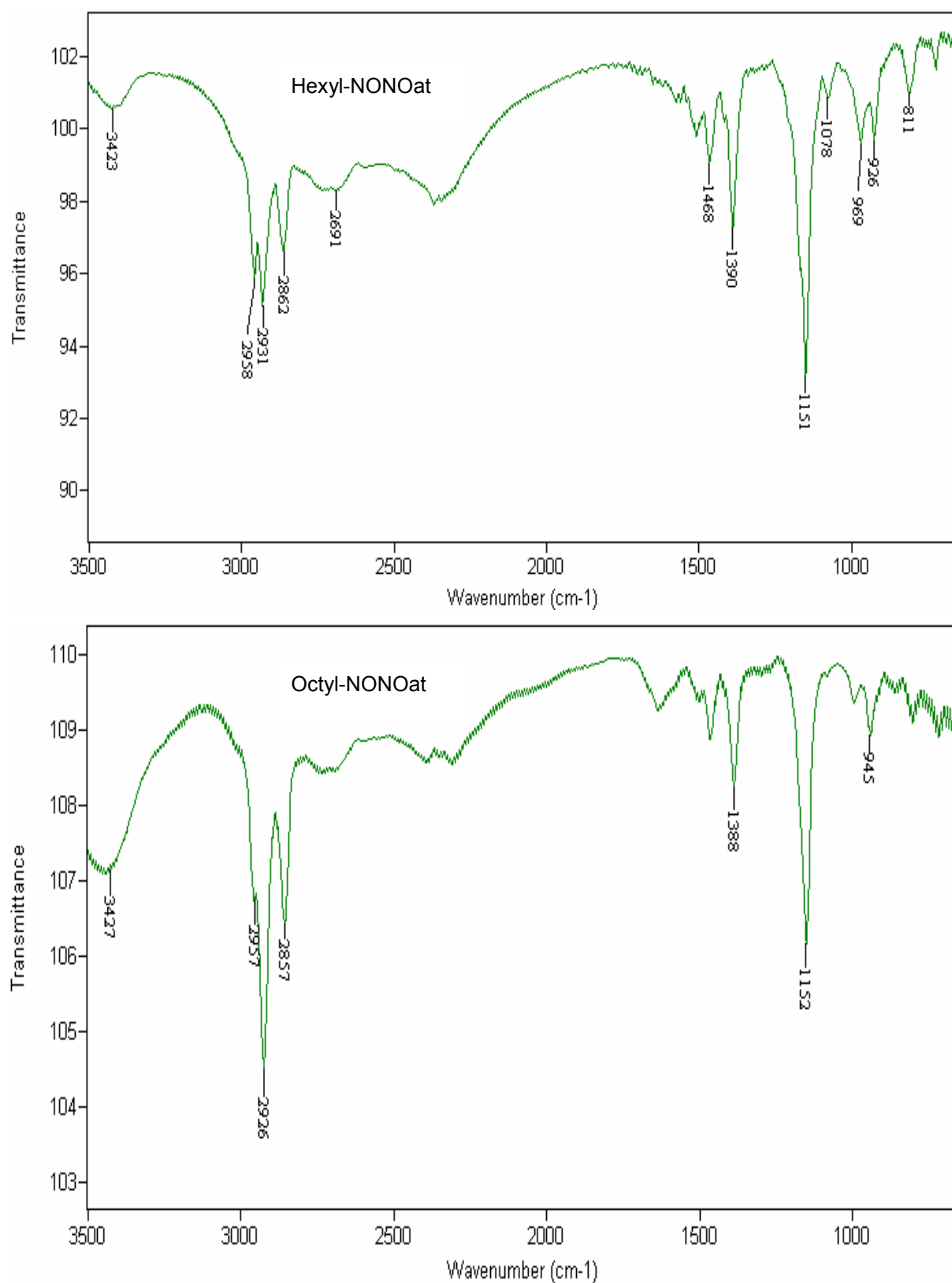
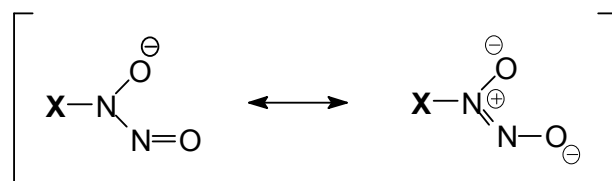


Abb. 41: IR-Spektren der Hexyl- und Octyl-NONOate **4b** und **4c**. Die Aufnahmen erfolgten als KBr-Pressling.

6 UV-spektroskopische Untersuchungen

6.1 Charakterisierung von *N*-Diazeniumdiolaten (NONOaten) mittels UV-Spektroskopie

Zur Charakterisierung von NONOaten hat sich die UV-Spektroskopie als Standardmethode etabliert. *N*-Diazeniumdiolate zeigen in wässriger Lösung eine charakteristische Absorptionsbande zwischen $\lambda_{\max} = 230 - 260 \text{ nm}$.^[2,32-34] Für eine große Anzahl von ihnen treten diese Banden jedoch innerhalb eines kleinen Bereiches zwischen 248 und 250 nm auf. Die dazugehörigen molaren Extinktionskoeffizienten ϵ_{\max} bewegen sich im Bereich zwischen 6000 und 9000 $\text{M}^{-1}\text{cm}^{-1}$.^[85] Da Lösungen von *N*-Diazeniumdiolaten in alkalischer Lösung (pH 12) stabil sind, können sie problemlos als Stammlösungen für UV-spektroskopische Untersuchungen verwendet werden. In neutraler und saurer Lösung hingegen erfolgt der Zerfall unter Abgabe von Stickstoffmonoxid. Je niedriger dabei der pH-Wert ist, umso rascher erfolgt der Zerfall der NONOate in der Lösung. Die UV-Spektroskopie ist unentbehrlich, wenn es um die Messung schneller Reaktionen geht. Sie bietet daher idealerweise neben der Charakterisierung auch die Möglichkeit, den Zerfall von NONOaten in wässriger Lösung zeitabhängig zu verfolgen. Die Abnahme des Absorptionsmaximums bei λ_{\max} erlaubt zudem eine ungestörte Beobachtung der Zerfallskinetik, da die Zerfallsprodukte keine Absorptionen in diesem Bereich aufweisen. Die Zersetzung der NONOate in wässriger Lösung folgt stets einem Geschwindigkeitsgesetz erster Ordnung. Über das Lambert Beer'sche Gesetz ($E = \epsilon \cdot c \cdot d$) kann schließlich die Konzentration an NONOat in der Lösung in Relation zur Extinktion E gesetzt werden. Die Geschwindigkeitskonstanten k bzw. Halbwertszeiten $t_{1/2}$, welche daraus resultieren, können sehr stark variieren, je nachdem, welches NONOat betrachtet wird. Die Beispiele in Abb. 2 zeigen eindrucksvoll die Bandbreite der Geschwindigkeitskonstanten und Halbwertszeiten. So findet man unter physiologischen Bedingungen für **DEA/NO** eine sehr kurze Halbwertszeit von nur 2 Minuten, während **DETA/NO** unter denselben Bedingungen erst nach 1200 Minuten zur Hälfte zerfallen ist. Die untere Tabelle zeigt eine Zusammenstellung verschiedener *N*-, *O*-, *S*- und *C*-Diazeniumdiolate, die allesamt von KEEFER et al. in den vergangenen 10 Jahren anhand ihrer UV-Spektren charakterisiert wurden.^[32,85]



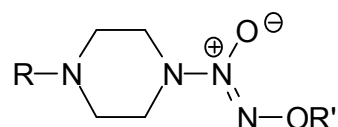
Tab. 4: Verschiedene *N*-, *O*-, *S*- und *C*-Diazeniumdiolate und deren charakteristische Absorptionen in den UV-Spektren.

Substituent X	λ_{\max} [nm]	ϵ_{\max} [$\text{M}^{-1} \cdot \text{cm}^{-1}$]
$\text{Et}_2\text{N}^{\text{a}}$	250	6500
iPrHN^{a}	252	8700
$\begin{array}{c} \text{H}_2\text{N}(\text{CH}_2)_3\text{N}^+(\text{CH}_2)_4 \\ \\ \text{N} \\ \\ \text{H}_2\text{N}(\text{CH}_2)_3 \end{array}$	252	8500
O^-^{b}	237	6100
$\text{O}_3\text{S}^-^{\text{c}}$	259	7100
Me	248	8600
Ph	284	9700

^a Natriumsalz, ^b Dinatriumsalz, ^c Ammoniumsalz

Bis auf eine Ausnahme zeigten alle Verbindungen erwartungsgemäß eine intensive Absorptionsbande im Bereich zwischen $\lambda_{\max} = 237 - 259 \text{ nm}$ ($\epsilon_{\max} = 6500 - 8700 \text{ M}^{-1} \text{ cm}^{-1}$). Verantwortlich hierfür ist in allen Fällen der $\text{X}[\text{N}(\text{O})\text{NO}]^-$ -Chromophor, und man nimmt an, dass es sich hierbei um einen $\pi \rightarrow \pi^*$ -Übergang handelt. Wegen der strukturellen Unterschiede in den einzelnen Substituenten **X** wird ebenso vermutet, dass sowohl das HOMO als auch das LUMO des $[\text{N}(\text{O})\text{NO}]^-$ -Fragments keine nennenswerte Wechselwirkungen mit den Orbitalen der **X**-Substituenten eingehen. Mit einer Wellenlänge von $\lambda_{\max} = 284 \text{ nm}$ stellt das *C*-Diazeniumdiolat mit **X** = Ph eine Ausnahme dar. Zumindest in diesem Fall scheint eine Konjugation (elektronische Wechselwirkung) zwischen dem $[\text{N}(\text{O})\text{NO}]^-$ -Fragment und dem **X**-Substituenten möglich zu sein. Denkbar wäre dies dann zumindest für den angeregten Zustand. Eine geringe Rotverschiebung von 9 nm wurde im Falle des schwefelhaltigen **SULFI/NO** (**X** = SO_3^-) beobachtet.

Vermutlich könnte diese bathochrome Verschiebung auf einen so genannten through-space-Stark-Effekt zurückgeführt werden.^[85] Von KEEFER et al. stammen zahlreiche Piperazin-NONOate, die ebenfalls UV-spektroskopisch untersucht worden sind.^[35]



Tab. 5: Verschiedene Piperazin-*N*-Diazoniumdiolate und deren charakteristischen Absorptionen in den UV-Spektren in 0.01 M NaOH^[35]

R	R'	λ_{\max} [nm]	ϵ_{\max} [M ⁻¹ ·cm ⁻¹]
H	CH ₃	234	7000
H	CH ₂ OCH ₃	232	8200
	CH ₂ OCH ₃	232	8500
	CH ₃	238	6400
	CH ₃	236	10000
	CH ₂ OCH ₃	234*	8400*
	CH ₃	218	15100

* Aufnahme erfolgte in Ethanol

Neben den unsubstituierten *N*-, *O*-, *S*- und *C*-Diazeniumdiolaten sind also eine Reihe weiterer *O*²-substituierter *N*-Diazeniumdiolate bekannt, deren charakteristische Absorptionsbanden im Bereich zwischen $\lambda_{\max} = 230 - 240$ nm auftreten. So beobachtet man für die in Tab. 5 gezeigten *O*²-substituierten Piperazin-NONOate intensive Banden zwischen $\lambda_{\max} = 234 - 238$ nm. Trotz der Vielfalt an Substituenten *R* und *R'* liegen alle Absorptionsmaxima in einem relativ engen Bereich, lediglich bei den Intensitäten sind zum Teil deutliche Unterschiede zu erkennen. So beobachtet man vor allem bei den stickstoffhaltigen Heterozyklen zum Teil doppelt so hohe Werte für ϵ .

6.2 UV-spektroskopische Untersuchung der hydrophoben NONOate

Alle UV-spektroskopischen Untersuchungen wurden in alkalischer Lösung durchgeführt. Die untere Tabelle gibt einen Überblick über Art und Zusammensetzung der einzelnen Lösungen in der Küvette. Da die NONOate **4b** und **4c** kaum bzw. überhaupt nicht wasserlöslich waren, wurde als Lösungsmittel jeweils ein Gemisch aus Wasser und Methanol im Verhältnis 1:1 verwendet. Im Falle der NONOate **4a** und **4d** hingegen genügten wässrige alkalische Lösungen.

Tab. 6: UV-spektroskopische Untersuchung der NONOate **4a** – **4d**.

NONOat	Konzentration	$\lambda_{\max}[\text{nm}]$	$\lg \epsilon$
Methyl-NONOat 4d	0.101 mM in 0.01 M NaOH	249	3.87
Butyl-NONOat 4a	0.121 mM in 0.10 M NaOH	249	3.85
Hexyl-NONOat 4b	0.101 mM in Wasser/Methanol = 1:1 (V:V); 0.1 M NaOH	249	3.86
Octyl-NONOat 4c	0.109 mM in Wasser/Methanol = 1:1 (V:V); 0.1 M NaOH	250	3.83

Alle UV-Spektren zeigten erwartungsgemäß eine intensive Absorptionsbande bei $\lambda_{\max} = 249$ nm für die Donatoren **4a**, **4b** und **4d** sowie bei $\lambda_{\max} = 250$ nm für das Octyl-NONOat **4c**. Die entsprechenden molaren Extinktionskoeffizienten ϵ bewegen sich im Bereich zwischen 3830 ($\lg \epsilon = 3.83$) und 3870 ($\lg \epsilon = 3.87$) $\text{M}^{-1} \cdot \text{cm}^{-1}$. In allen Fällen kann die intensive Absorption auf den $\text{X}[\text{N}(\text{O})\text{NO}]^-$ -Chromophor zurückgeführt werden. Die Intensitäten der einzelnen Banden sprechen sehr stark für einen $\pi \rightarrow \pi^*$ -Übergang. Obwohl die NONOate **4a** – **4d** unterschiedlich lange Alkylketten tragen, unterscheiden

sich die UV-Spektren im Bereich zwischen 220 bis 280 nm kaum voneinander. Die Absorptionsmaxima liegen in den für *N*-Diazeniumdiolate typischen Bereich um $\lambda_{\text{max}} = 250$ nm. Gleiches gilt für deren Intensitäten. Die einzelnen Beträge für ϵ zeigen, dass die Länge der Alkylketten keinen Einfluss auf die Intensität der Bande ausübt. Lage und Intensität der betreffenden Bande werden nicht oder nur sehr schwach von den entsprechenden Alkylsubstituenten beeinflusst. So werden auch keine bathochrome oder hypsochrome Verschiebungen beobachtet. Dass kaum Unterschiede in den Spektren zu finden sind, steht in Einklang mit der von KEEFER et al. geäußerten Vermutung, dass HOMO und LUMO des $[\text{N}(\text{O})\text{NO}]^-$ -Fragments keine nennenswerte Wechselwirkungen mit den Orbitalen der **X**-Substituenten eingehen.^[85] Andernfalls würde man Unterschiede in den Spektren erkennen. Oberhalb von 280 nm beobachtet man mit wachsender Alkylkette eine erhöhte Absorption, die vermutlich auf Lichtstreuung zurückzuführen ist. Bekannt ist, dass jede Art von Materie das Licht streut, Gase ebenso wie Flüssigkeiten und Festkörper. Infolge der Molekülgrößen scheint dieser Effekt mit dem Auge nicht wahrnehmbar zu sein.

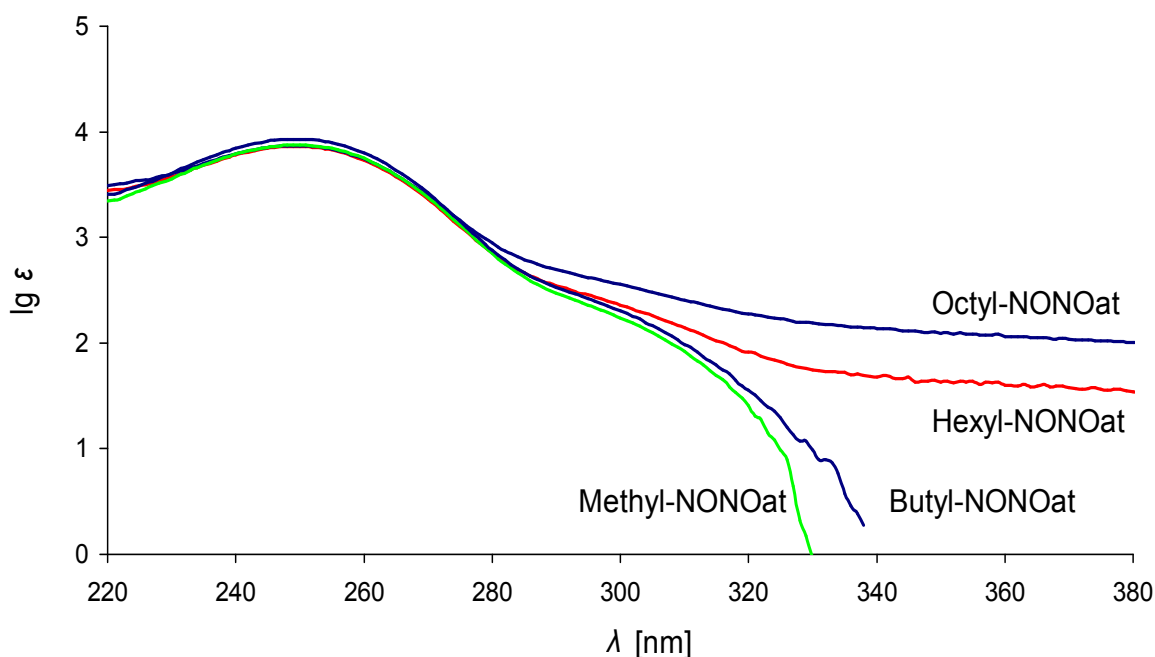
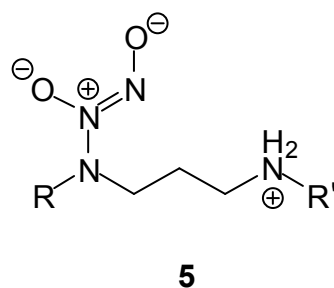
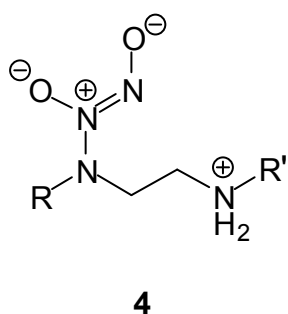


Abb. 42: UV-Spektren der NONOate **4a** – **4d**. Aufnahmen erfolgten in 0.01 M NaOH (**4d**), in 0.1M NaOH (**4a**), sowie in 0.1 M NaOH in Wasser/MeOH (1:1/V:V) (**4b** und **4c**).

6.3 Untersuchungen zum Zerfall der hydrophoben NONOate in Phosphatpufferlösung (pH 7.4)

Zu Beginn der 1990er Jahre beschrieben KEEFER et al. eine Reihe von *N*-Diazeniumdiolaten auf der Basis von alkylierten *N,N'*-Diaminen. Über die übliche UV-spektroskopische Charakterisierung hinaus wurde bei allen NONOaten auch der Zerfall in Phosphatpufferlösung (pH 7.4, 22 °C) intensiv untersucht. Die kinetischen Daten zeigten eindeutig, dass mit Zunahme der Länge der Alkylketten R und R' auch eine Zunahme der Halbwertszeit erreicht werden konnte, und das gleichermaßen für die Donatoren **4** und **5**. Zur Stabilisierung der NONOate scheint das Ethylendiamin-Gerüst besser geeignet zu sein, denn alle NONOate vom Typ **4** besitzen signifikant höhere Halbwertszeiten $t_{1/2}$ als die entsprechenden Donatoren **5** mit dem Propylendiamin-Gerüst. Eine Übersicht aller untersuchten NONOate bietet die untere Tabelle.^[33]



Tab. 7: Halbwertszeiten $t_{1/2}$ für den Zerfall verschiedener *N*-Diazeniumdiolate in Phosphatpufferlösung (pH 7.4) auf der Basis von alkylierten *N,N'*-Diaminen bei 22 ± 2 °C.

4			5		
R	R'	$t_{1/2}$ [min]	R	R'	$t_{1/2}$ [min]
Me	Me	36.1	Me	Me	10.1
Me	H	40	Me	H	13.7
Et	H	333	Et	Et	71.8
Et	Et	327	Pr	H	76.6
(CH ₂) ₂ NH ₂	H	3400	ⁱ Pr	H	93
			ⁱ Pr	ⁱ Pr	88.5
			cyclohexyl	H	115
			(CH ₂) ₃ NH ₂	H	284
			(CH ₂) ₄ NH ₂	H	165

Das Vorhandensein der Alkylketten R und R' in **4** und **5** scheint deren Stabilität so zu beeinflussen, dass diese mit Zunahme der Lipophilie einhergeht. Daher wurden die symmetrisch alkylierten NONOate **4a** – **4c** synthetisiert, deren Alkylreste mit R = R' = *n*-Butyl in **4a**, *n*-Hexyl in **4b** und *n*-Octyl in **4c** zu einer systematischen Steigerung der Lipophilie beitragen sollte. Zusätzlich wurde auch der kleinste, bereits von KEEFER et al. im Jahre 1993 beschriebene Vertreter **4d** mit R = R' = Methyl synthetisiert. Für den Zerfall von **4a** – **4d** in Phosphatpufferlösung (pH 7.4) sollten die Geschwindigkeitskonstanten *k* sowie die Halbwertszeiten $t_{1/2}$ bestimmt werden. Da ein Vergleich mit literaturbekannten NONOaten (vgl. Tab. 7) erfolgen sollte, wurden alle Messungen bei einer konstanten Temperatur von 22.0 ± 0.1 °C durchgeführt.

Zur Bestimmung von *k* und $t_{1/2}$ wurde jeweils die Abnahme der Extinktion bei $\lambda_{\max} = 250$ nm für **4d** bzw. bei $\lambda_{\max} = 251$ nm für **4a** in Pufferlösung in Abhängigkeit von der Zeit verfolgt. Aus der zeitlichen Abnahme der Extinktion konnten dann die Werte für *k* und $t_{1/2}$ ermittelt werden, die für den Zerfall der einzelnen NONOate charakteristisch sind. Um den Zerfall des Methyl-NONOats **4d** zu untersuchen, wurde ein Puffergemisch aus Dinatrium-hydrogenphosphat und Kaliumdihydrogenphosphat (0.1 M; pH 7.37 ± 0.03) verwendet. Für den Zerfall des Butyl-NONOats **4a** diente ebenfalls ein $\text{KH}_2\text{PO}_4/\text{Na}_2\text{HPO}_4$ -Puffergemisch (0.1 M; pH 7.39 ± 0.03). Für die einzelnen Untersuchungen lag die Konzentration von **4a** bei 0.101 mM und von **4d** bei 0.111 mM.

Um den Zerfall der NONOate **4b** und **4c** zu untersuchen, wurden verschiedene Gemische aus Dioxan und Phosphatpuffer (1:4/V:V und 1:1/V:V für **4b** und **4c**) verwendet (Pufferlösung aus Na_2HPO_4 und NaH_2PO_4 ; 0.1 M, pH 7.35). Die Zugabe von Dioxan war erforderlich, da der Zerfall in reiner Pufferlösung nicht verfolgt werden konnte. Stets waren die Lösungen getrübt, so dass eine ungestörte Beobachtung der Zerfallskinetik nicht möglich war. Als NONOat-Stammlösungen dienten eine 10.25 mM Lösung von **4b** in 0.1 M NaOH in Wasser/Methanol (1:1 / V:V) sowie eine 10.75 mM Lösung von **4c** in 0.1 M NaOH in Methanol. Für die UV-Untersuchungen wurden Stamm- und Pufferlösungen so miteinander vermischt, dass eine 0.042 mM Lösung von **4b** und eine 0.036 mM Lösung von **4c** vorlagen. Eine Zusammenfassung aller Ergebnisse bietet die nachfolgende Tabelle.

Tab. 8: Geschwindigkeitskonstanten k und Halbwertszeiten $t_{1/2}$ für den Zerfall der NONOate **4a** – **4d** in Phosphatpufferlösung (pH 7.4) bei 22.0 ± 0.1 °C.

	Geschwindigkeitskonstante k $10^{-4} [\text{s}^{-1}], (r^2)^{\ddagger}$	Halbwertszeit $t_{1/2}$ [min]
Methyl-NONOat 4d	$(1.56 \pm 0.01), (0.9999)$	74.1 ± 0.1
Butyl-NONOat 4a	$(0.21 \pm 0.01), (0.9999)$	561 ± 3
Hexyl-NONOat 4b	$(0.20 \pm 0.01)^*, (0.9997)$ $(0.95 \pm 0.02)^{**}, (0.9985)$	$(590 \pm 7)^*$ $(122 \pm 2)^{**}$
Octyl-NONOat 4c	$(0.93 \pm 0.01)^{**}, (0.9979)$	$(125 \pm 1)^{**}$

* Dioxan und Phosphatpuffer (1:4 / V:V). ** Dioxan und Phosphatpuffer (1:1 / V:V). \ddagger Bestimmtheitsmaß für die Regression an eine Zerfallskinetik 1. Ordnung.

Die Ergebnisse folgen den Erwartungen, und zeigen, dass mit Zunahme der Länge der Alkylreste auch eine Zunahme der Halbwertszeit erreicht werden kann. Das Methyl-NONOat **4d** weist den kleinsten Betrag für $t_{1/2}$ auf. Für das Butyl-NONOat **4a** wurde eine siebenfach höhere Halbwertszeit bestimmt, wohingegen bei **4b** die Halbwertszeit auf mehr als das Achtfache gesteigert werden konnte. Bei einem Dioxan-Puffer-Verhältnis von 1:1/V:V wurden für beide NONOate **4b** und **4c** vergleichbare Werte für die Halbwertszeit bestimmt. Mit 122 Minuten für **4b** und 125 Minuten für **4c** liegen die Beträge um das Viereinhalbfache niedriger als die Halbwertszeit, die für das Hexyl-NONOat **4b** bei einem Dioxan-Puffer-Verhältnis von 1:4/V:V gefunden wurde. Die deutlich geringeren Werte für $t_{1/2}$ können in beiden Fällen auf den hohen Gehalt an Dioxan zurückgeführt werden. Bei einem Lösungsmittelverhältnis von 1:4/V:V liegt die Halbwertszeit des Hexyl-NONOates **4b** bei 590 Minuten, ein Betrag, der dem oben genannten Trend folgt. Der Zerfall des Hexyl-NONOates **4b** in Dioxan/Phosphatpuffer (1:4/V:V) folgt ebenso wie der Zerfall von **4a** und **4d** in reiner Pufferlösung einem Geschwindigkeitsgesetz erster Ordnung. Abb. 43 zeigt die zeitliche Abnahme der Extinktion bei $\lambda_{\text{max}} = 250$ nm für **4d**, während in Abb. 44 das Gleiche für Verbindung **4a** und in Abb. 45 für das Hexyl-NONOat **4b** aufgetragen ist.

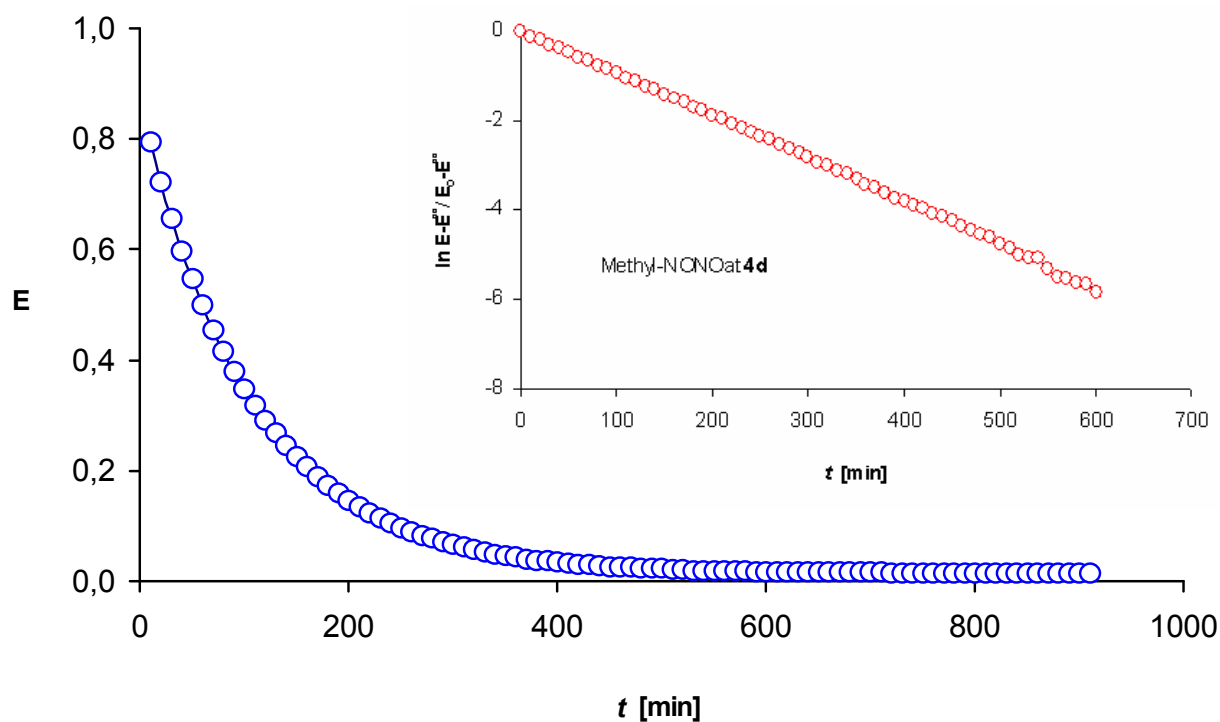


Abb. 43: Zeitliche Abnahme der Extinktion bei $\lambda_{\text{max}} = 251 \text{ nm}$ für das Methyl-NONOat **4d** in Phosphatpufferlösung ($\text{pH } 7.37 \pm 0.03$) bei $22.1 \pm 0.1 \text{ }^\circ\text{C}$. Die linearisierte Form liefert $\ln E - E^\infty / E_0 - E^\infty = -0.0096 \cdot t [\text{min}^{-1}] + 0.0335$ mit $R^2 = 0.9995$.

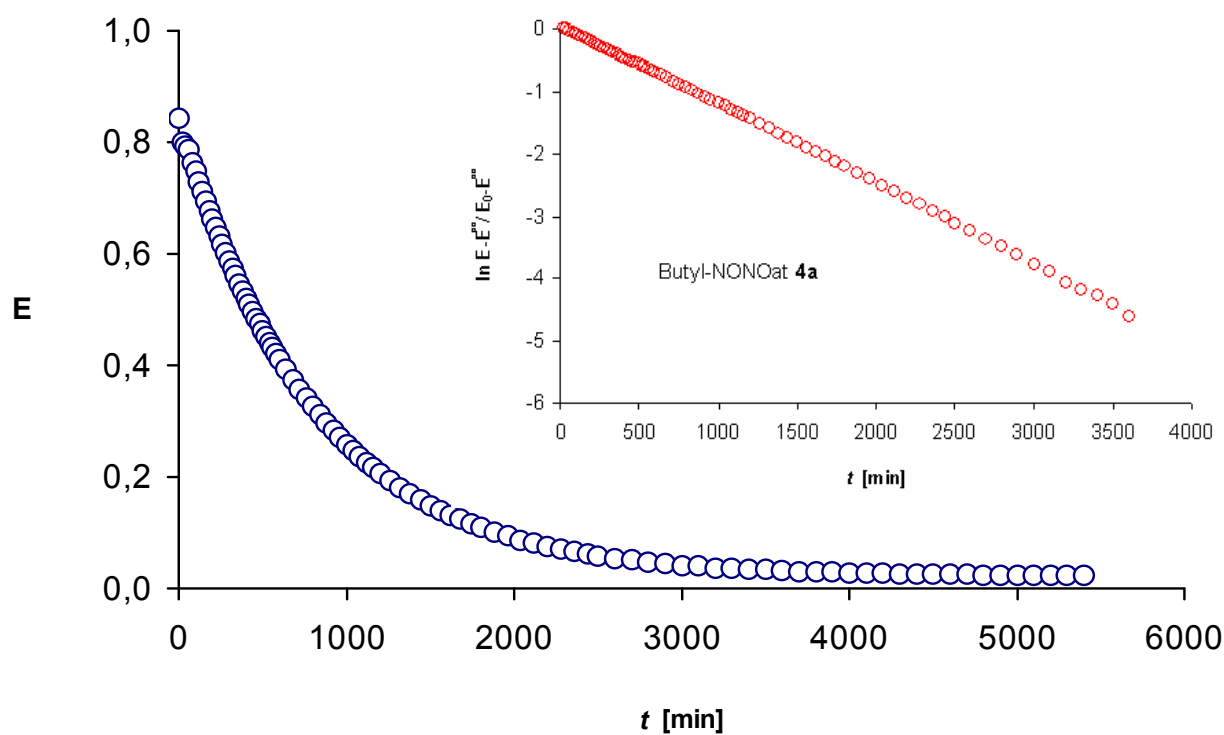


Abb. 44: Zeitliche Abnahme der Extinktion bei $\lambda_{\max} = 250 \text{ nm}$ für das Butyl-NONOat **4a** in Phosphatpufferlösung (pH 7.39 ± 0.03) bei $22.0 \pm 0.1 \text{ }^{\circ}\text{C}$. Die linearisierte Form liefert $\ln E - E^{\infty}/E_0 - E^{\infty} = -0.0013 \cdot t [\text{min}^{-1}] + 0.0714$ und $R^2 = 0.9998$.

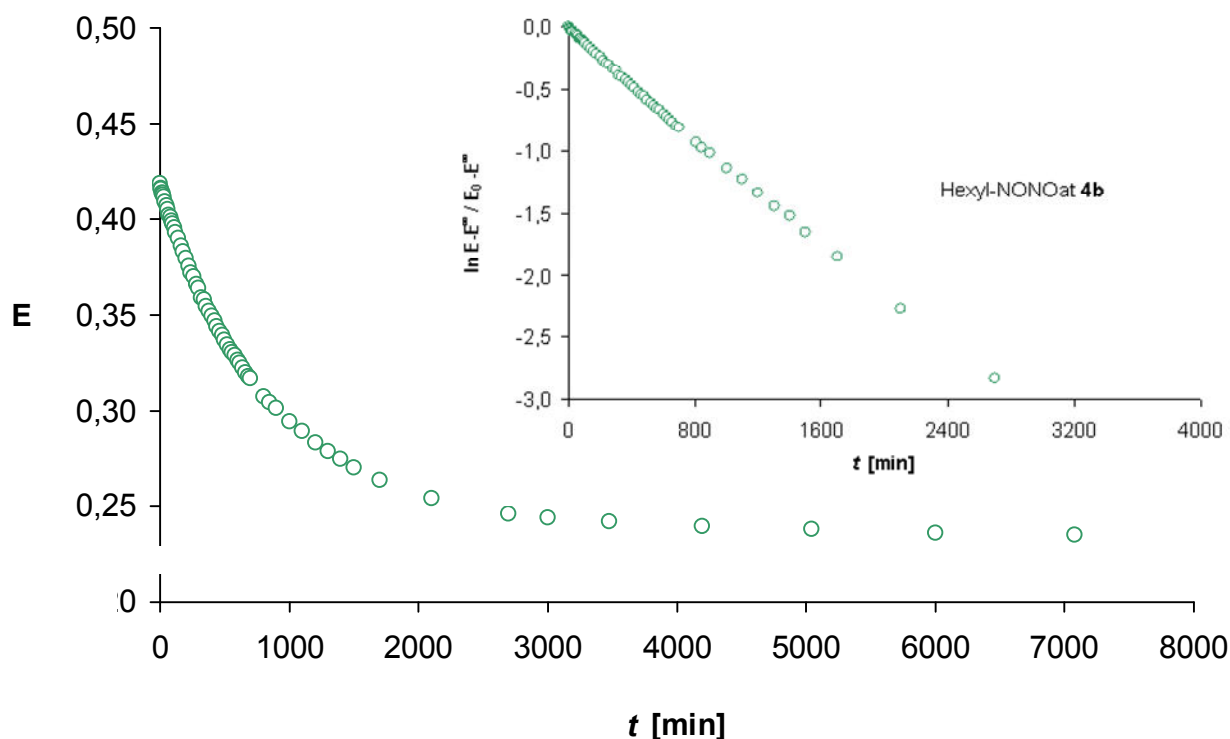


Abb. 45: Zeitliche Abnahme der Extinktion bei $\lambda_{\max} = 250 \text{ nm}$ für das Hexyl-NONOat **4b** in Phosphatpufferlösung (pH 7.39 ± 0.03) bei $22.0 \pm 0.1 \text{ }^{\circ}\text{C}$. Die linearisierte Form liefert $\ln E - E^{\infty}/E_0 - E^{\infty} = -0.0011 \cdot t [\text{min}^{-1}] + 0.0177$ und $R^2 = 0.9980$.

Die Werte, die für die Donatoren **4a** und **4b** ermittelt wurden, zeigen auch, dass längere Alkylreste als *n*-Hexyl keinen großen Einfluss mehr auf $t_{1/2}$ ausüben. Im Vergleich zum Butyl-Derivat **4a** wurde bei **4b** keine signifikant höhere Halbwertszeit beobachtet. Noch deutlicher wird das, wenn man die Halbwertszeiten in Phosphatpufferlösung (pH 7.4) bei $22 \text{ }^{\circ}\text{C}$ in Abhängigkeit von der Länge der Alkylketten betrachtet (Abb. 46). Mit Zunahme der Kettenlängen folgt die Kurve einem asymptotischen Verlauf, bei dem die Werte für $t_{1/2}$ einem konstanten Betrag entgegenstreben. Die Halbwertszeit für das Octyl-NONOat **4c** sollte von der Größe her dem Grenzwert entsprechen, so dass dessen Halbwertszeit $t_{1/2}$ leicht abgeschätzt werden kann. Durch Anpassung an eine empirische Exponentialfunktion wird für das Octyl-NONOat **4c** ($n = 8$) eine Halbwertszeit von ca. 612 Minuten abgeschätzt. Bei der Auftragung wurden auch literaturbekannte *N*-Diazeniumdiolate berücksichtigt.

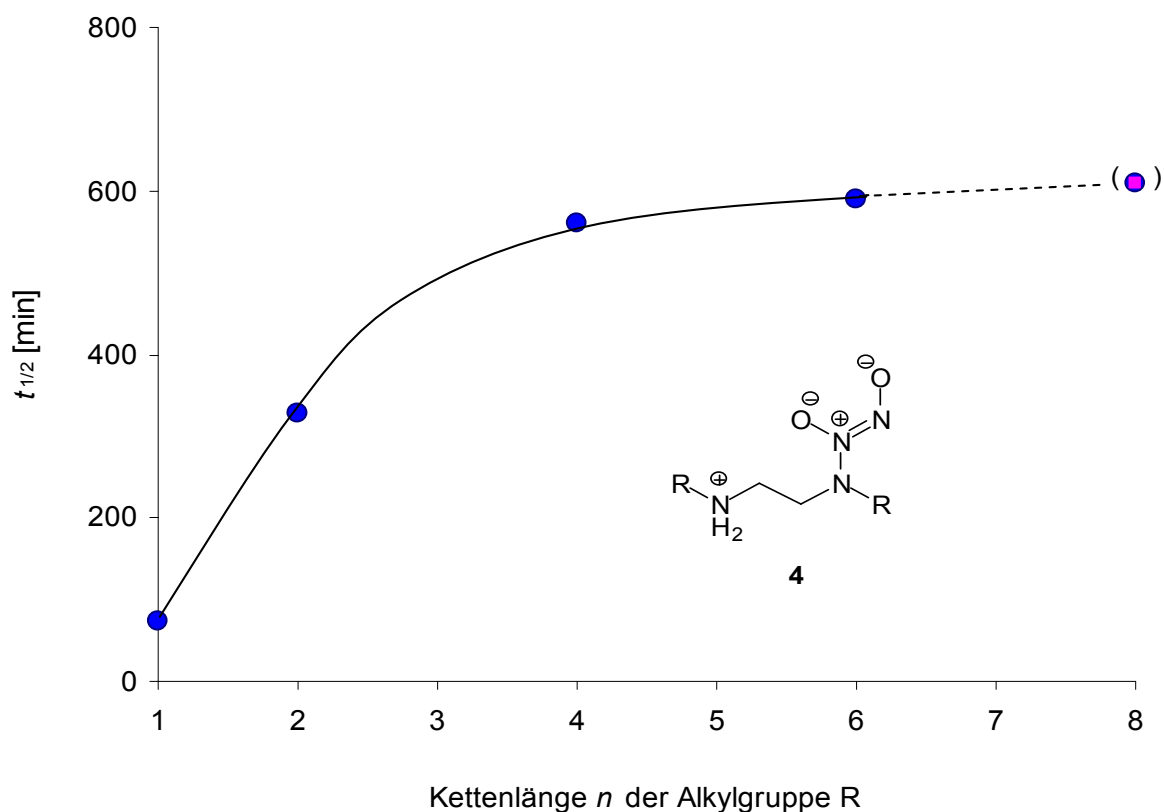
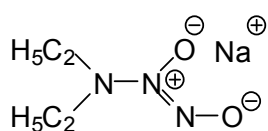
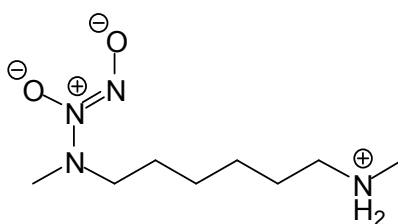
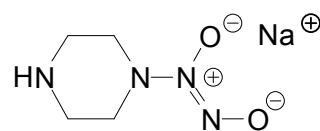
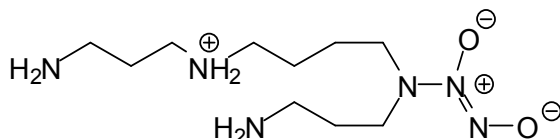
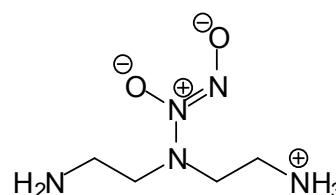


Abb. 46: Halbwertszeiten $t_{1/2}$ für den Zerfall verschiedener NONOate vom Typ **4** in Phosphatpufferlösung (pH 7.4) bei 22.0 ± 0.1 °C in Abhängigkeit von der Kettenlänge n der Alkylreste R. Die Halbwertszeit für das Ethylderivat $R = R' = \text{Ethyl}$ ($n = 2$) wurde von KEEFER et al. im Jahre 1993 bestimmt und ist in der Abbildung berücksichtigt worden. Für das Methyl-Derivat **4d** ($R = R' = \text{Methyl}$) wurde der experimentell ermittelte Wert verwendet. KEEFER et al. erhielten für den gleichen Donor einen um die Hälfte geringeren Wert von 36 Minuten (pH 7.4, 22 ± 2 °C). Der Wert für $n = 8$ wurde durch Extrapolation erhalten.

6.4 Kinetische und mechanistische Betrachtungen zum Zerfall von *N*-Diazeniumdiolaten in Abhängigkeit vom pH-Wert

6.4.1 Untersuchungen zum Zerfall von literaturbekannten *N*-Diazeniumdiolaten

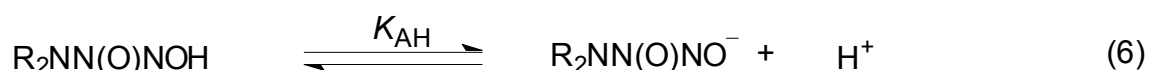
Es ist bekannt, dass der Zerfall von NONOaten einem Geschwindigkeitsgesetz erster Ordnung folgt. Außerdem ist bekannt, dass der Zerfall durch H^+ -Ionen katalysiert wird, denn die Freisetzung von NO aus den Donatoren erfolgt umso rascher, je niedriger der pH-Wert der Lösung ist. Daher werden bei Zerfallsuntersuchungen von *N*-Diazeniumdiolaten zunächst effektive Geschwindigkeitskonstanten k_{eff} erhalten, die nicht nur von der Temperatur, sondern maßgeblich auch von der H^+ -Ionenkonzentration abhängig sind. Der Zerfall verschiedener literaturbekannter NONOate wurde von DAVIES, WINK, SAAVEDRA und KEEFER im Jahre 2000 in Abhängigkeit vom pH-Wert intensiv untersucht. Bei der Interpretation ihrer kinetischen Daten kamen sie zu unterschiedlichen Ergebnissen für k_{eff} , je nachdem, welche NONOate von ihnen betrachtet worden waren. In allen Fällen zeigte sich aber eindeutig, dass der Zerfall in Pufferlösung durch Protonen katalysiert worden war. Gegenstand ihrer kinetischen Messungen waren die NONOate **DEA/NO**, **MAHAMA/NO**, **PIPERAZI/NO**, **SPER/NO** und **DETA/NO**.^[86]

**DEA/NO****MAHAMA/NO****PIPERAZI/NO****SPER/NO****DETA/NO**

Die Autoren gingen davon aus, dass der Zerfall von **DEA/NO** und **MAHAMA/NO** einem zweistufigen Mechanismus folgt, bei dem die Protonierung des betreffenden NONOates [Gl. (6)] dem Zerfall unter Freisetzung von NO [Gl. (7)] vorausgeht. Für die

Geschwindigkeitskonstante k_{eff} formulierten sie einen von der Protonenkonzentration $[\text{H}^+]$ abhängigen Ausdruck der Form (8) bzw. (9).

$$-\frac{d[\text{R}_2\text{NN}(\text{O})\text{NO}^-]}{dt} = -k_{\text{eff}} [\text{R}_2\text{NN}(\text{O})\text{NO}^-]$$



$$k_{\text{eff}} = \frac{k_{\text{AH}} \cdot [\text{H}^+]}{[\text{H}^+] + K_{\text{AH}}} \quad (8)$$

$$\frac{1}{k_{\text{eff}}} = \frac{K_{\text{AH}}}{k_{\text{AH}}} \cdot \frac{1}{[\text{H}^+]} + \frac{1}{k_{\text{AH}}} \quad (9)$$

Untersuchungen zum Zerfall von **DEA/NO** wurden im Bereich zwischen pH = 5.2 und 8.0 durchgeführt, während für das **MAHAMA/NO** pH-Werte zwischen 6.6 und 12.0 gewählt wurden. In beiden Fällen ergab sich für k_{eff} eine lineare Abhängigkeit von der H^+ -Ionenkonzentration der Lösung über die gesamten pH-Bereiche, die für die einzelnen NONOate verwendet wurden. Unter Verwendung der linearisierten Form Gl. (9) konnten schließlich die Gleichgewichtskonstanten K_{AH} sowie die Geschwindigkeitskonstanten k_{AH} für beide NONOate ermittelt werden.

	$k_{\text{AH}} [\text{s}^{-1}]$	$\text{p}K_{\text{AH}}$
DEA/NO	1.11 ± 0.44	5.04 ± 0.17
MAHAMA/NO	0.518 ± 0.392	5.88 ± 0.35

Für den Zerfall von **SPER/NO** und **PIPERAZI/NO** in Pufferlösung gingen die Autoren von einem komplexeren Mechanismus aus, da mehr als ein basisches Zentrum vorhanden ist. Während bei **DEA/NO** und **MAHAMA/NO** von einem einzigem Protonierungsschritt [Gl. (6)] ausgegangen wurde, beschrieben sie für die anderen Donatoren mehrere solcher Schritte. In beiden Fällen erhielten sie komplexere

Beziehungen für k_{eff} . Gleichung 10 beschreibt für beide NONOate (**SPER/NO** und **PIPERAZI/NO**) die ebenfalls von der H^+ -Ionenkonzentration abhängige Geschwindigkeitskonstante k_{eff} .

$$k_{\text{eff}} = \frac{k_{\text{AH}} \cdot [\text{H}^+] + k_{\text{A}} \cdot K_{\text{A}}}{[\text{H}^+] + K_{\text{A}}} \quad (10)$$

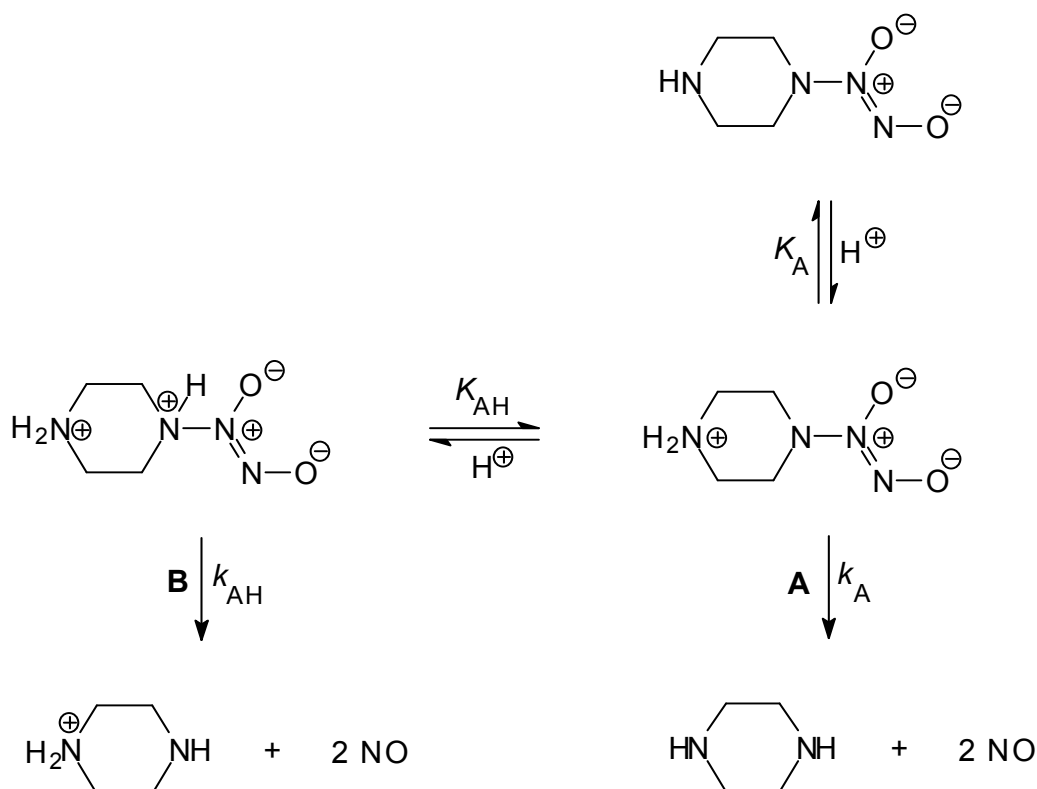
$$k_{\text{eff}} = \frac{k_{\text{AH}} \cdot [\text{H}^+]}{K_{\text{A}}} + k_{\text{A}} \quad (11)$$

$$\frac{1}{k_{\text{eff}} - k_{\text{A}}} = \frac{K_{\text{A}}}{(k_{\text{AH}} - k_{\text{A}})} \cdot \frac{1}{[\text{H}^+]} + \frac{1}{k_{\text{AH}} - k_{\text{A}}} \quad (12)$$

Für Untersuchungen des **PIPERAZI/NO** wurde ein pH-Bereich zwischen 5.2 und 8.5 gewählt, während das **SPER/NO** zwischen 6.1 und 8.5 vermessen wurde. Bei der Auftragung von k_{eff} gegen die H^+ -Ionenkonzentration zeigten beide Donatoren einen linearen Verlauf. Während dies für das Spermin-Derivat über den gesamten pH-Bereich zutraf, galt das für **PIPERAZI/NO** nur im pH-Bereich zwischen 5.4 – 7.4. Oberhalb davon traten deutliche Abweichungen auf. Was den linearen Kurvenverlauf innerhalb der erstgenannten pH-Bereiche betrifft, so folgten beide Donatoren der gleichen Beziehung für k_{eff} . Gleichung (11) beschreibt sehr gut diese lineare Abhängigkeit. Ausgehend von (10) konnte der Ausdruck für k_{eff} zunächst in die vereinfachte Form (11) überführt werden, denn die Autoren gingen davon aus, dass innerhalb der untersuchten pH-Bereiche der Betrag von K_{AH} wesentlich kleiner ist als die Protonenkonzentration $[\text{H}^+]$ in der Lösung ($K_{\text{AH}} \ll [\text{H}^+]$). So konnte der lineare Verlauf von k_{eff} für beide NONOate zufriedenstellend beschrieben werden, und zwar für **SPER/NO** über den gesamten untersuchten pH-Bereich von 6.1 – 8.5 sowie im Falle des **PIPERAZI/NO** für alle pH-Werte unterhalb 7.4. Werte für die Konstante k_{A} sowie für das Verhältnis $k_{\text{A}}/K_{\text{AH}}$ konnten schließlich berechnet werden, denn der Achsenabschnitt konnte als k_{A} interpretiert werden, während aus der Steigung das Verhältnis $k_{\text{A}}/K_{\text{AH}}$ ermittelt wurde. Die Konstanten k_{AH} und K_{AH} waren zuletzt ähnlich wie im Falle von **DEA/NO** und **MAHAMA/NO** über die linearisierte Form von (10) zugänglich (Gl. (12)).

PIPEARAZI/NO zeigte bei höheren pH-Werten ($\text{pH} > 7.4$) in Abhängigkeit von der H^+ -Ionenkonzentration einen nichtlinearen Verlauf für k_{eff} , so dass die Beziehungen (10)

und (11) keine Gültigkeit mehr besaßen. Um die Abweichungen von der Linearität zu beschreiben, wurden zwei mögliche Zerfallswege (Weg **A** und **B**) beschrieben. Demnach soll der Zerfall von **PIPERAZI/NO** sowohl von der einfach (Weg **A**) als auch von der zweifach protonierten Form (Weg **B**) ausgehen. Unter physiologischen Bedingungen ($\text{pH} = 7.4$) liegt das **PIPERAZI/NO** ebenso wie das Piperazin einfach protoniert vor ($\text{p}K_{\text{A}} = 8.3$, $\text{p}K_{\text{PIPERAZIN}} = 9.8$), während mit niedrigerem pH-Wert beide Stickstoffatome protoniert werden ($\text{p}K_{\text{AH}} = 4.9$, $\text{p}K_{\text{PIPERAZIN}} = 5.6$). Mithilfe der einzelnen $\text{p}K$ -Werte konnten sie also abschätzen, dass der Zerfall bei $\text{pH} = 7.4$ vorwiegend über Weg **A** beschritten wird, während bei niedrigeren pH-Werten ($\text{pH} < 7.4$) der zweite Weg (**B**) an Bedeutung gewinnt. Mit Zunahme der H^+ -Konzentration in der Lösung werden beide Stickstoffatome im Piperazin-Ring protoniert, so dass der Zerfall bei niedrigem pH-Wert schneller über Weg **B** verläuft.



Gleichung (13) beschreibt den nichtlinearen Verlauf von k_{eff} oberhalb $\text{pH} = 7.4$. Bei niedrigeren pH-Werten hingegen geht diese Beziehung in Gleichung (11) über, weshalb bei niedrigeren pH-Werten auch eine lineare Abhängigkeit für k_{eff} beobachtet wird.

$$k_{\text{eff}} = \frac{k_{\text{AH}} \cdot [\text{H}^+]^2 + k_{\text{A}} \cdot K_{\text{AH}} \cdot [\text{H}^+]}{[\text{H}^+]^2 + K_{\text{AH}} \cdot [\text{H}^+] + K_{\text{AH}} \cdot K_{\text{A}}} \quad (13)$$

	$k_A [s^{-1}]$	pK_A	$k_{AH} [s^{-1}]$	pK_{AH}
PIPERAZI/NO	$(2.2 \pm 1.0) \cdot 10^{-3}$	8.3 ± 0.1	0.091 ± 0.062	4.9 ± 0.3
SPER/NO	$(7.2 \pm 1.5) \cdot 10^{-4}$	-	0.014 ± 0.006	5.5 ± 0.2

Diethylentriamin-NONOat (**DETA/NO**) hat sich gegenüber den anderen NONOaten als außergewöhnlich stabil erwiesen ($t_{1/2} \sim 20$ h bei 37 °C und pH 7.4). Kinetische Untersuchungen zum Zerfall konnten daher über einen sehr breiten pH-Bereich erfolgen. Mithilfe dreier verschiedener Puffersysteme (Na_2HPO_4/NaH_2PO_4 , CH_3CO_2Na/CH_3CO_2H und Glycin/HCl) wurde dessen Zerfall im Bereich zwischen pH = 2.0 und 7.5 untersucht. Anhand der erhaltenen Daten für k_{eff} konnten die Autoren zeigen, dass der säurekatalysierte Zerfall von **DETA/NO** über zwei separate Wege erfolgt (k_{AH1} und k_{AH2}). Im Bereich zwischen pH = 7.5 und 5.9 wird der erste Weg beschritten, während der andere zwischen pH = 2.0 und 5.0 durchlaufen wird. Beide Zerfallswege konnten ebenfalls durch Gleichung (8) beschrieben werden, so dass anhand der linearisierten Form (9) auch zwei verschiedene Wertepaare für k_{AH1} und pK_{AH1} sowie k_{AH2} und pK_{AH2} ermittelt wurden.^[86]

	$k_{AH1} [s^{-1}]$	pK_{AH1}	$k_{AH2} [s^{-1}]$	pK_{AH2}
DETA/NO	$(2.75 \pm 1.75) \cdot 10^{-4}$	5.94 ± 0.31	$(3.33 \pm 0.31) \cdot 10^{-2}$	3.09 ± 0.42

6.4.2 Untersuchungen zum Zerfall von *N,N'*-Dimethylethyldiamin- und *N,N'*-Di-*n*-butylethyldiamin-NONOat in Abhängigkeit vom pH-Wert

In Analogie zu den vorstehend beschriebenen Literaturuntersuchungen wurden für die Methyl- und Butyl-NONOate **4d** und **4a** der Zerfall in Abhängigkeit vom pH-Wert verfolgt. Untersuchungen zum Zerfall von **4a** wurden im Bereich zwischen 5.10 und 8.02 durchgeführt, während für das Methyl-NONOat **4d** pH-Werte zwischen 6.74 und 8.02 gewählt wurden. Als Pufferlösungen dienten jeweils Gemische aus KH_2PO_4 und Na_2HPO_4 (0.1 M) sowie Essigsäure und Natriumacetat (0.1 M). Alle Messungen erfolgten bei einer konstanten Temperatur von 22.0 ± 0.1 °C. Die Konzentrationen an NONOat betrugen jeweils 0.114 mM für **4a** und 0.101 mM für **4d**. Die Tabellen 23 und 24 geben eine Übersicht über die Geschwindigkeitskonstanten k und die daraus berechneten Halbwertszeiten $t_{1/2}$ in Abhängigkeit vom pH-Wert.

Tab. 9: Geschwindigkeitskonstanten k und Halbwertszeiten $t_{1/2}$ für den Zerfall von **4d** in Abhängigkeit vom pH-Wert bei 22.0 ± 0.1 °C.

pH-Wert (± 0.03)	Geschwindigkeitskonstante k $10^{-4} \cdot k$ [s^{-1}], (r^2)	Halbwertszeit $t_{1/2}$ [min]
6.74	(5.43 ± 0.03), (0.9980)	21.3 ± 0.1
7.03	(3.28 ± 0.04), (0.9990)	35.2 ± 0.4
7.22	(2.07 ± 0.01), (0.9995)	55.8 ± 0.4
7.37	(1.60 ± 0.01), (0.9995)	72.2 ± 0.4
7.60	(0.82 ± 0.01), (0.9991)	140 ± 1
7.80	(0.56 ± 0.01), (0.9967)	205 ± 4
8.02	(0.28 ± 0.02), (0.9990)	410 ± 7

Tab. 10: Geschwindigkeitskonstanten k und Halbwertszeiten $t_{1/2}$ für den Zerfall von **4a** in Abhängigkeit vom pH-Wert bei 22.0 ± 0.1 °C.

pH-Wert (± 0.03)	Geschwindigkeitskonstante k $10^{-4} \cdot k$ [s^{-1}], (r^2)		Halbwertszeit $t_{1/2}$ [min]
5.10	(31.1 ± 0.2),	(0.9997)	3.72 ± 0.02
5.43	(14.6 ± 0.1),	(0.9995)	7.90 ± 0.06
5.79	(7.65 ± 0.05),	(0.9997)	15.1 ± 0.1
6.02	(4.24 ± 0.03),	(0.9998)	27.2 ± 0.2
6.58	(1.16 ± 0.01),	(0.9995)	100 ± 1
7.00	(0.49 ± 0.01),	(0.9996)	235 ± 1
7.21	(0.33 ± 0.01),	(0.9990)	351 ± 3
7.47	(0.19 ± 0.01),	(0.9979)	606 ± 6
8.02	(0.058 ± 0.001),	(0.9990)	1997 ± 13

Die Abbildungen 47, 48 und 49, 50 zeigen für **4a** und **4d** den Verlauf von k in Abhängigkeit vom zugänglichen pH-Wert. Der Verlauf der Kurven zeigt sehr deutlich, dass der Zerfall der NONOate umso rascher erfolgt, je niedriger der pH-Wert der Lösung ist. Trägt man den dekadischen Logarithmus der Geschwindigkeitskonstanten k in Abhängigkeit vom pH-Wert auf, so erhält man in beiden Fällen eine Gerade. Der lineare Zusammenhang für das Methyl-Derivat **4d** ist durch $\lg k = -(0.95 \pm 0.06) \cdot \text{pH} + (3.18 \pm 0.46)$ ($r^2 = 0.9969$) gegeben, während das hydrophob modifizierte Butyl-NONOat **4a** der Gleichung $\lg k = -(0.94 \pm 0.02) \cdot \text{pH} + (2.27 \pm 0.14)$ ($r^2 = 0.9994$) gehorcht. Beide Geradengleichungen sind durch gleich grosse Steigungen gekennzeichnet, was darauf hindeutet, dass der in Abhängigkeit vom pH-Wert beobachtete NONOat-Zerfall nur vom pK_S -Wert der NONO-Gruppe abhängig ist.

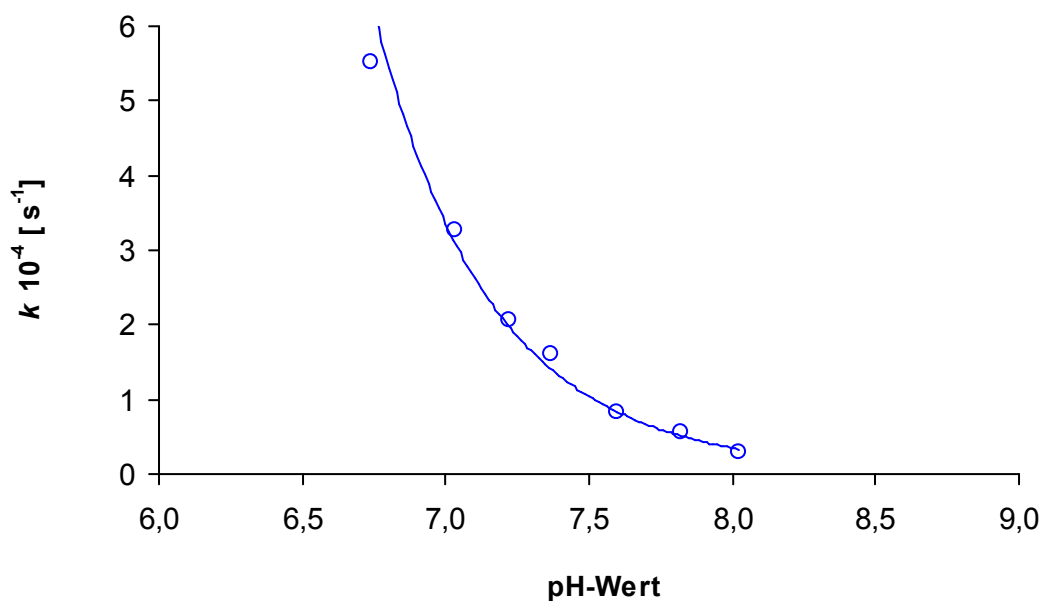


Abb. 47: Verlauf der Geschwindigkeitskonstanten k des Zerfalls von Methyl-NONOat **4d** in Abhängigkeit vom pH-Wert. Die Messungen erfolgten bei 22.0 ± 0.1 °C.

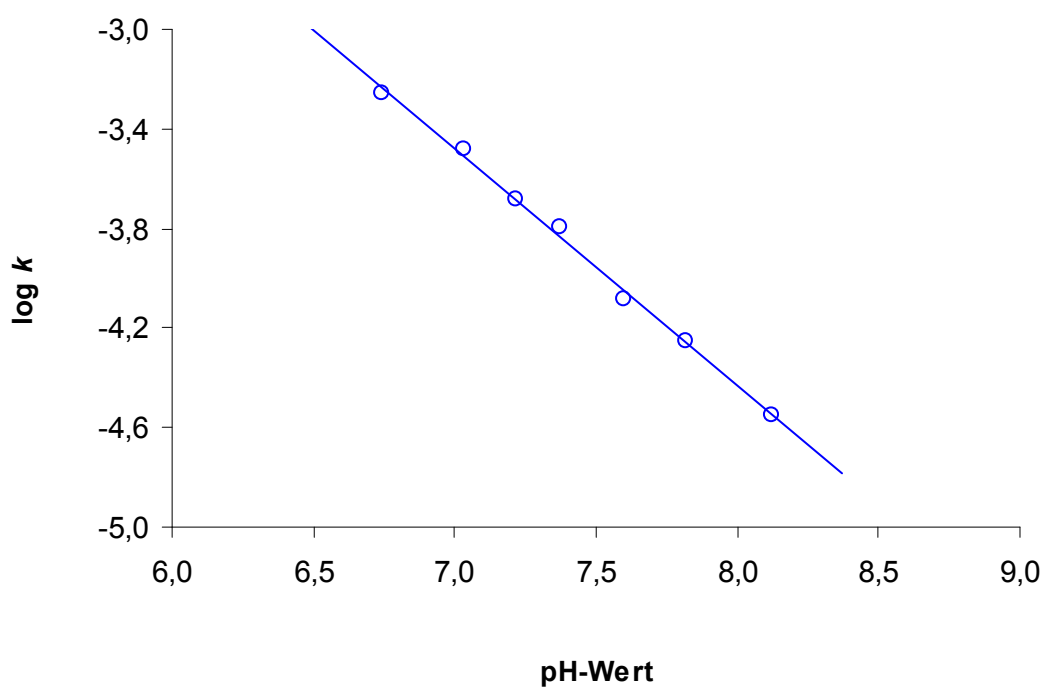


Abb. 48: Der Logarithmus der gemessenen Geschwindigkeitskonstanten $\lg k$ von **4d** in Abhängigkeit vom pH-Wert. Es liegt ein linearer Zusammenhang vor. Dabei sind $\lg k = -(0.95 \pm 0.06) \cdot \text{pH} + (3.18 \pm 0.46)$ ($r^2 = 0.9969$).

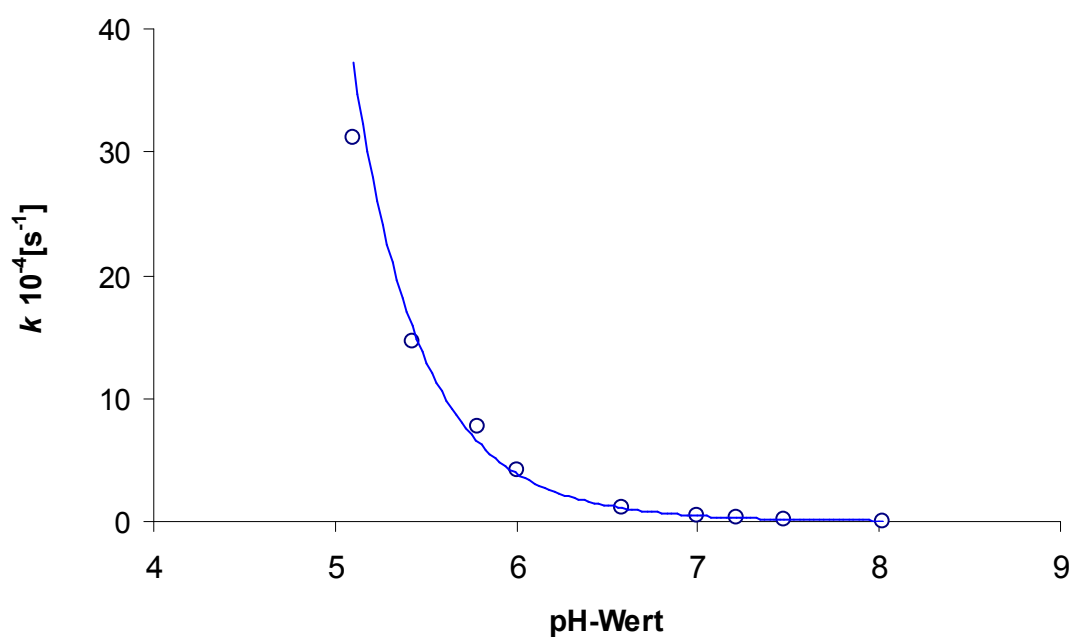


Abb. 49: Verlauf der Geschwindigkeitskonstanten k des Zerfalls von Butyl-NONOat **4a** in Abhängigkeit vom pH-Wert. Die Messungen erfolgten bei 22.0 ± 0.1 °C.

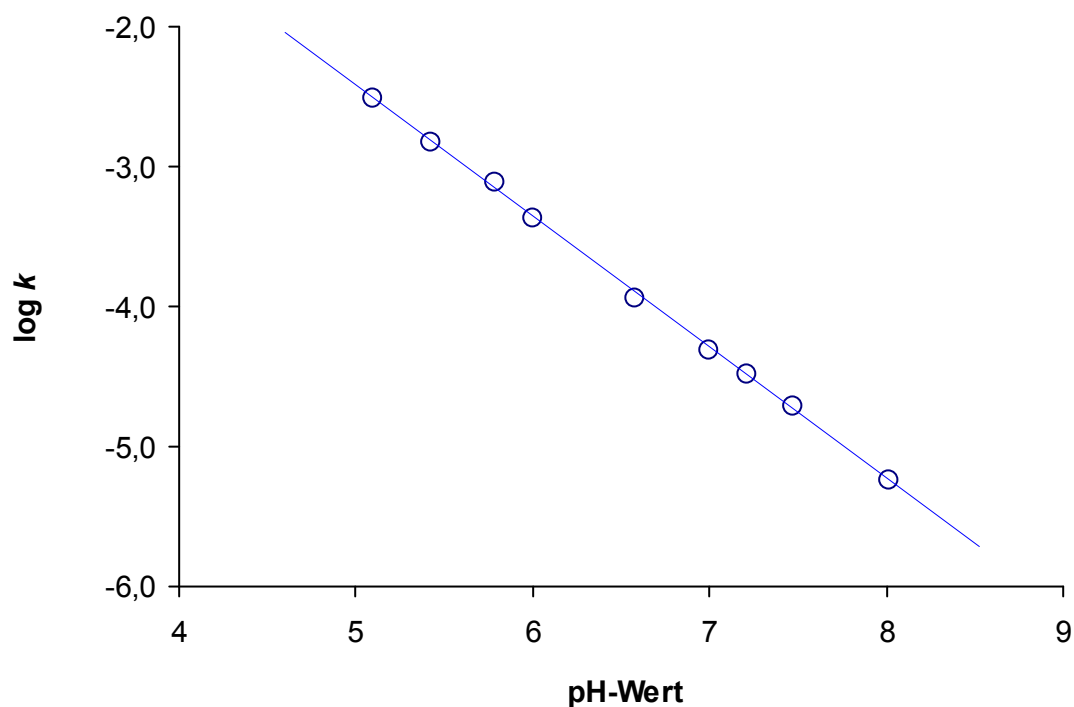
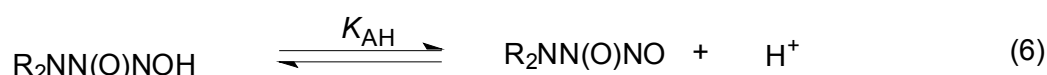


Abb 50: Der Logarithmus der gemessenen Geschwindigkeitskonstanten $\lg k$ von **4a** in Abhängigkeit vom pH-Wert. Es liegt ein linearer Zusammenhang vor. Dabei sind $\lg k = -(0.94 \pm 0.02) \cdot \text{pH} + (2.27 \pm 0.14)$ ($r^2 = 0.9994$)

Die Daten aus Tabelle 9 und 10 deuten stark darauf hin, dass auch der Zerfall des Methyl-NONOats **4d** und des Butyl-NONOats **4a** nach dem in Abschn. 6.4.1 beschriebenen zweistufigen Mechanismus folgt. Ebenso wie bei den literaturbekannten Vertretern **DEA/NO** und **MAHAMA/NO** scheinen auch die Donatoren **4a** und **4d** direkt nach der Protonierung (K_{AH}) unter Freisetzung von Stickstoffmonoxid zu zerfallen (k_{AH}).



$$k_{eff} = \frac{k_{AH} \cdot [H^+]}{[H^+] + K_{AH}}$$

(8)

$$\frac{1}{k_{eff}} = \frac{K_{AH}}{k_{AH}} \cdot \frac{1}{[H^+]} + \frac{1}{k_{AH}}$$

(9)

Unter Anwendung der linearisierten Form von (8) wurden die Gleichgewichtskonstanten K_{AH} sowie die Geschwindigkeitskonstanten k_{AH} ermittelt. Innerhalb der untersuchten pH-Bereiche zeigten beide Donatoren **4a** und **4d** sowohl bei der Auftragung von k gegen $[H^+]$ als auch bei der Darstellung von $1/k$ gegen $1/[H^+]$ einen linearen Verlauf. Die Tabelle 11 gibt eine Zusammenfassung aller Ergebnisse. Abb. 51 und 52 zeigen die zugehörigen Auftragungen.

Tab. 11: Geschwindigkeitskonstanten k_{AH} und scheinbare Säurekonstanten pK_{AH} für den Zerfall von **4a** und **4d** in Abhängigkeit vom pH-Wert bei 22.0 ± 0.1 °C.

	$k_{AH} \cdot 10^{-3} [s^{-1}]$	pK_{AH}
Methyl-NONOat 4d	1.03 ± 0.51	6.46 ± 0.36
Butyl-NONOat 4a	1.18 ± 0.86	5.68 ± 0.16

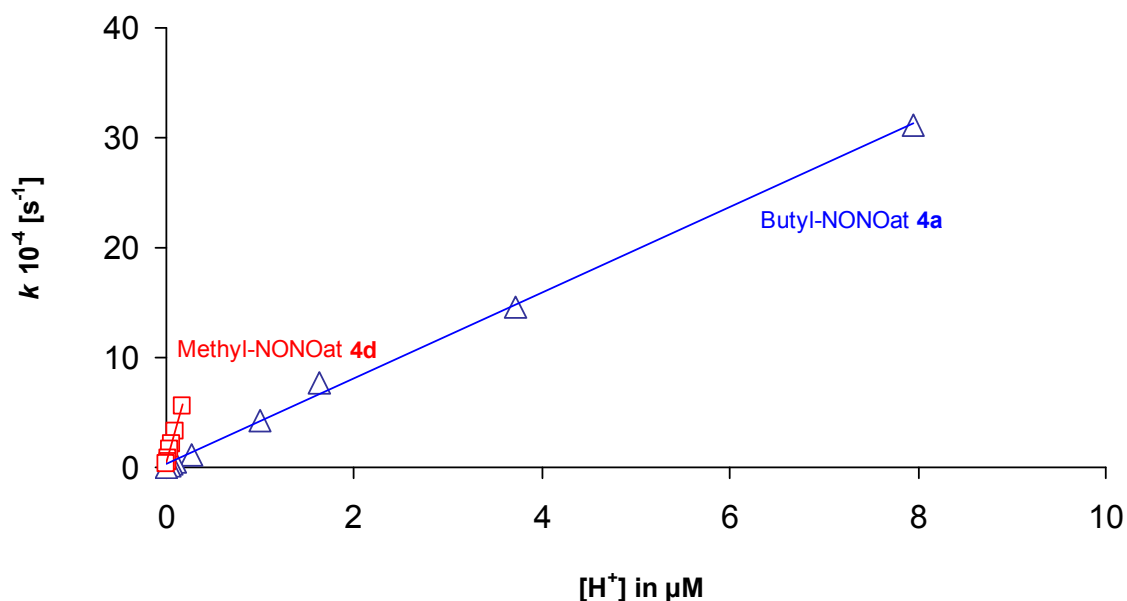


Abb. 51: Auftragung der Geschwindigkeitskonstanten k in Abhängigkeit von der H^+ -Ionenkonzentration in der Lösung (k versus $[H^+]$) für die NONOate **4a** und **4d** bei 22.0 ± 0.1 °C. Beide Donatoren folgen einem linearen Zusammenhang mit $k [s^{-1}] = - (390 \pm 14) [M \cdot s^{-1}] \cdot [H^+] [M]^{-1} + (2.5 \pm 4.1) \cdot 10^{-5} [s^{-1}]$ ($r^2 = 0.9984$) für **4a** und $k [s^{-1}] = - (3051 \pm 329) [M \cdot s^{-1}] \cdot [H^+] [M]^{-1} + (1.5 \pm 2.7) \cdot 10^{-5} [s^{-1}]$ ($r^2 = 0.9913$) für **4d**.

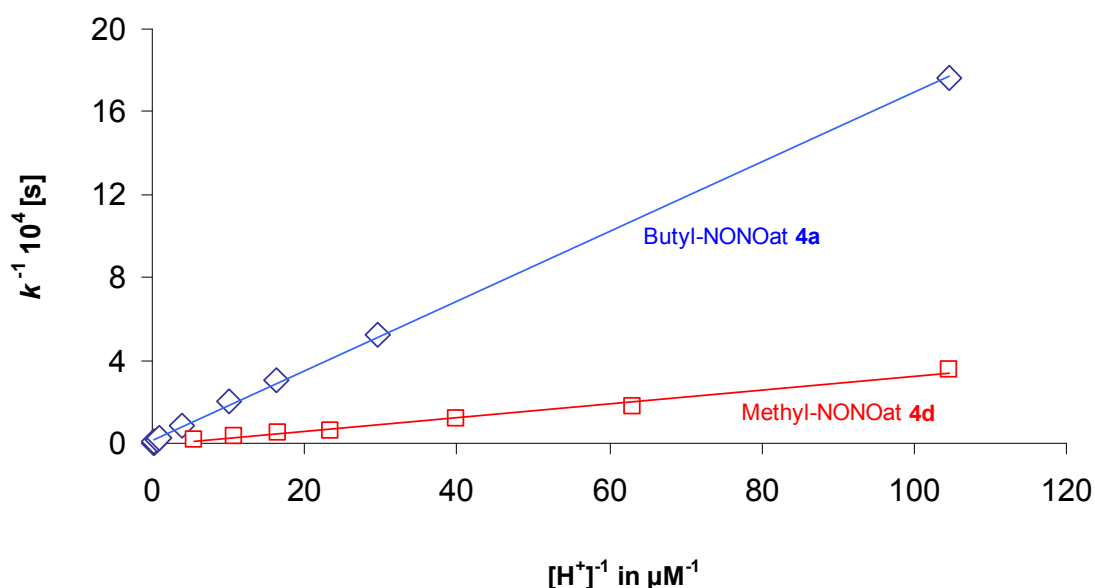


Abb. 52: Auftragung der Geschwindigkeitskonstanten $1/k$ in Abhängigkeit von der reziproken H^+ -Ionenkonzentration in der Lösung ($1/k$ versus $1/[H^+]$) für die NONOate **4a** und **4d** bei 22.0 ± 0.1 °C. Auch hier liegt in beiden Fällen ein linearer Zusammenhang vor mit $k^{-1} [s] = - (1.78 \pm$

$0.09) \cdot 10^{-3} [\text{M} \cdot \text{s}] \cdot [\text{H}^+]^{-1} [\text{M}]^{-1} + (849 \pm 1160) [\text{s}]$ ($r^2 = 0.9973$) für **4a** und $k^{-1} [\text{s}] = - (3.34 \pm 0.39) \cdot 10^{-4} [\text{M} \cdot \text{s}] \cdot [\text{H}^+]^{-1} [\text{M}]^{-1} + (967 \pm 1953) [\text{s}]$ ($r^2 = 0.9898$) für **4d**.

6.5 Wechselwirkung von *N*-Diazeniumdiolaten mit dem anionischen Tensid Natriumdodecylsulfat (SDS) und deren Mizellen

Das Vorhandensein von elektrischen Doppelschichten an biologischen Membranen hat zur Folge, dass entlang der Grenzfläche lokale Ionenkonzentrationen auftreten. Ladungsverteilung und Potentialverlauf zeigen im Vergleich zur *bulk*-Phase deutliche Unterschiede. Das Potential folgt einem exponentiellen Verlauf, so dass eine unterschiedliche Ladungsverteilung resultiert. Dies wiederum führt zu einer lokalen pH-Wert-Erniedrigung innerhalb der Doppelschicht, die quantitativ mithilfe des Modells von STERN beschrieben werden kann. Das STERN-Modell kann also dazu verwendet werden, die Ladungsverteilung entlang der äußeren Grenzfläche einer natürlichen Membran zu verstehen. Das gilt auch für das Auftreten lokaler pH-Werte entlang der äußeren Grenzfläche.^[57-61] Natriumdodecylsulfat-(SDS)-Mizellen stellen einfache Modellsysteme für natürliche Membranen dar, weil auch sie ähnlich wie die Oberflächen einer natürlichen Membran elektrische Doppelschichten ausbilden.

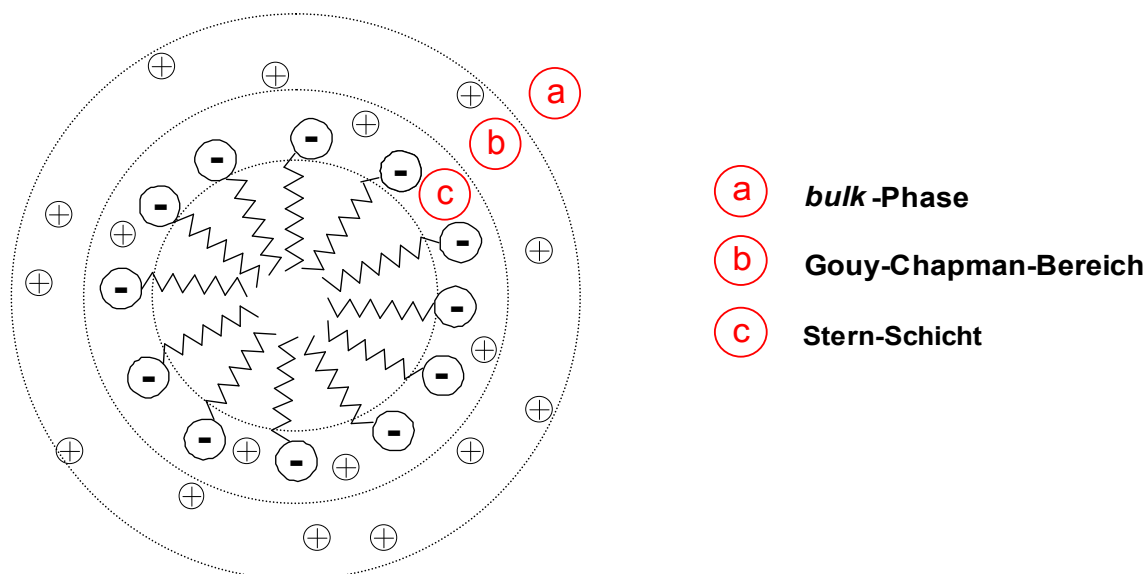


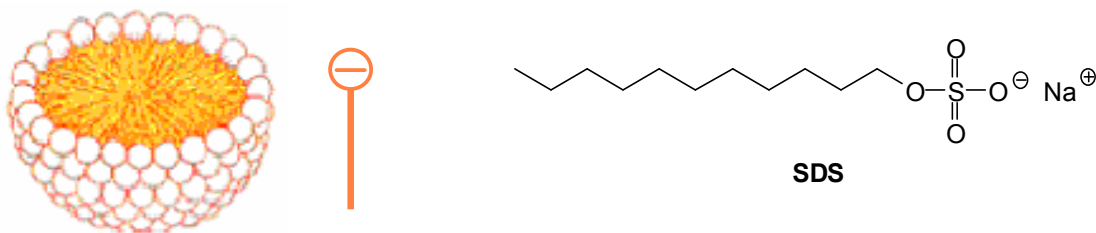
Abb. 53: Sphärische Mizelle eines anionischen Tensids wie Natriumdodecylsulfat (SDS) und deren schematische Ladungsverteilung auf der Oberfläche.

Es ist bekannt, dass die Freigabe von Stickstoffmonoxid aus *N*-Diazeniumdiolaten umso rascher erfolgt, je niedriger der pH-Wert ist.^[86] Aufgrund hydrophober Wechselwirkungen sollten lipophile NONOate wie **4a** - **4c** eine höhere Affinität zu natürlichen Membranen

aufweisen. Idealerweise wären diese nach dem Einbau in die Membranoberfläche der lokalen pH-Wert-Erniedrigung ($\text{pH} < 7.4$) ausgesetzt, was schließlich zu einer rascheren NO-Freigabe führen sollte. Die Freisetzung von NO würde daher nicht spontan erfolgen, sondern selektiv nach Wechselwirkung mit der natürlichen Membran (Rezeptor). Gleiches sollte man auch bei der Wechselwirkung mit SDS-Mizellen beobachten.

6.5.1 Bildung, Struktur und Eigenschaften von Mizellkolloiden am Beispiel von Natriumdodecylsulfat (SDS)

Natriumdodecylsulfat (SDS) gehört aufgrund der negativ geladenen Kopfgruppe zu den anionischen Tensiden. Die Mizellbildung, die an die amphiphile Struktur von SDS geknüpft ist, ist ein Assoziationsprozess, dem ein echtes thermodynamisches Gleichgewicht zugrunde liegt. Jeder Schritt ist reversibel und kann mithilfe des Massenwirkungsgesetzes (MWG) beschrieben werden.^[87]



$$\frac{[\text{N}_n]}{[\text{N}]^n} = K_n \quad (15)$$

Einzelmoleküle **N** und Aggregate **N_n** stehen im Gleichgewicht, so dass das MWG eine Assoziationskonstante **K_n** liefert. Da die Mizellbildung ein reversibler Prozess ist, spricht man auch von einem *pseudo*-chemischen Gleichgewicht. Der Beschreibung über das Massenwirkungsgesetz steht das so genannte Phasenseparationsmodell (Pseudophasenmodell) gegenüber, bei dem die Mizellen als eigenständige Mikrophase betrachtet werden. Diese Phasen stehen im Gleichgewicht mit der Tensidlösung, in der die einzelnen Moleküle gelöst sind. Unter Gleichgewichtsbedingungen sind dann das chemische Potential μ_W der Tensidmoleküle in der wässrigen Phase sowie das entsprechende Potential in der Mizellphase μ_M gleich groß: $\mu_W = \mu_M$.

$$\mu_M = \mu_W^0 + RT \ln x_T \quad (16)$$

$$\Delta \mu = \mu^M - \mu_W^0 = RT \ln x_T \quad (17)$$

Ebenso wie bei der Beschreibung von Mischphasen (Mischphasenthermodynamik) ergibt sich der Betrag von μ_W als Summe des Standardpotentials μ_W^0 und eines konzentrationsabhängigen Terms der Form $RT \ln x_T$. Mit Zunahme des Molenbruchs x_T nimmt der rechte Ausdruck in Gleichung 16 zu, und die kritische Mizellbildungskonzentration cmc ist schließlich erreicht, wenn die Beträge auf beiden Seiten gleich groß sind, so dass $x_T = x_{cmc}$ ist. Der Prozess der Mizellbildung ist vergleichbar mit dem Lösen eines Feststoffes in einem Lösungsmittel. Bis zur Sättigung geht der Feststoff vollständig in Lösung. Oberhalb der Sättigungskonzentration liegen Festkörper und gelöste Einzelmoleküle nebeneinander im Gleichgewicht vor. Die Sättigung ist dann ebenso wie die Mizellbildung ein Gleichgewichtsprozess, bei dem das chemische Potential $\mu_F^0(s)$ des reinen Festkörpers gleich dem Potential in der Lösung, $\mu_F^0(l) + RT \ln x_F$, ist. Insgesamt ist die Mizellbildung ein entropiegetriebener Prozess.^[87,88]

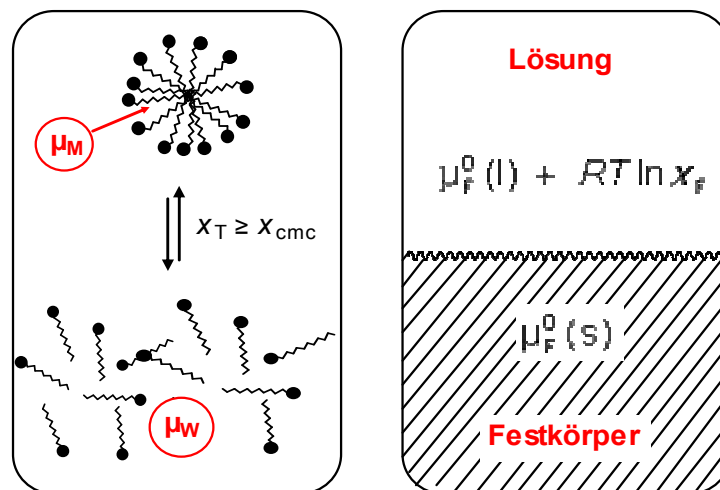


Abb. 54: Die Bildung von Mizellen ist ein Gleichgewichtsprozess, bei dem das chemische Potential μ_M in der Mizelle (Mikrophase) gleich dem chemischen Potential der Einzelmoleküle in der Lösung μ_W ist (links). Auch die Sättigung ist ein Gleichgewichtsprozess. Hier besteht das Gleichgewicht zwischen reinem Feststoff und gelösten Feststoffmolekülen in der Lösung (rechts).

Mizellen bilden sich spontan in Form eines dynamischen Gleichgewichts bei einer definierten Konzentration, der sogenannten kritischen Mizellbildungskonzentration cmc . Natriumdodecylsulfat besitzt bei 25 °C in wässriger Lösung eine cmc_{SDS} von 8.2 mM.^[87] Gestalt und Größe der Mizellen werden durch eine Reihe von Faktoren beeinflusst.

Dazu zählen der chemische Aufbau der Tenside, Ladungszustand, Polarität des Lösungsmittels, Tensidkonzentration, Fremdelektrolyt-Gehalt sowie die Temperatur. Generell übt die Temperatur nur einen geringen Einfluss auf die *cmc* aus. Als Faustregel gilt dabei, dass eine Temperaturerhöhung um 50 °C zu einer ca. 30-prozentig höheren *cmc* führt. Meist führt eine Temperaturerhöhung oberhalb der Raumtemperatur zu einer besseren Löslichkeit des Tensids, so dass die kritische Mizellbildungskonzentration ebenfalls ansteigt. Viele Tenside zeigen in der Nähe der Raumtemperatur sogar ein Minimum in der *cmc*, so dass mit sinkender Temperatur innerhalb eines kleinen Bereiches die *cmc*-Werte leicht ansteigen.^[87,89] Der Einfluss der Temperatur auf die kritische Mizellbildungskonzentration von SDS wurde von MAJHI und BLUME sowie von CHATTERJEE, MOULIK, SANYAL, MISHRA und PURI in den Jahren 2001 und 2004 untersucht. Tab. 9 zeigt ausgewählte Werte der kritischen Mizellbildungskonzentration cmc_{SDS} für Natriumdodecylsulfat (SDS) in Wasser (Methoden: Leitfähigkeitsmessung, Differential Scanning Calorimetry **DSC** und Mikrokolorimetrie **MC**).^[90,91]

Tab. 12: Ausgewählte Werte der kritischen Mizellbildungskonzentration cmc_{SDS} für Natriumdodecylsulfat (SDS) in Wasser bei verschiedenen Temperaturen.^[90,91]

<i>T</i> [K]	cmc_{SDS} [mM]		
	DSC*	Leitfähigkeit	MC*
283	9.02		
288		8.14	8.37
293	8.73	8.03	8.02
298		7.75	7.70
303	9.06	7.50	7.78
308		7.40	8.15
313	9.26	7.90	8.56
318		8.50	8.70
323	10.10		
333	10.83		

* **DSC** (Differential Scanning Calorimetry), **MC** (Mikrokolorimetrie)

Einen weitaus größeren Einfluss auf den Mizellbildungsprozess haben dagegen der Fremdelektrolytgehalt und das Lösungsmittel. CHATTERJEE et al. (2004) bestimmten die cmc von Natriumdodecylsulfat auch in Gegenwart von Natriumchlorid (NaCl). Der temperaturabhängige Verlauf wurde zwei Jahre zuvor von TAN, ZIEGLER, STEINBAUER und SEELIG in Pufferlösung (0.1 M NaCl, 10 mM Tris, pH 7.4) untersucht. Tab. 10 gibt eine Zusammenfassung aller Ergebnisse.^[91,92]

Tab. 13: Die kritische Mizellbildungskonzentration cmc_{SDS} für Natriumdodecylsulfat (SDS) in Abhängigkeit von der Natriumchlorid-Konzentration bei 30 °C (links).^[91] Die cmc_{SDS} in Pufferlösung (0.1 M NaCl, 10 mM Tris, pH 7.4) in Abhängigkeit von der Temperatur (rechts).^[92]

[NaCl][M]	cmc_{SDS} [mM]	T [K]	cmc_{SDS} [mM]
0	7.78	301	1.57
0.02	3.68	308	1.64
0.05	2.33	313	1.78
0.1	1.72	323	2.00
0.2	0.90		
0.4	0.54		
0.8	0.30		

Durch zusätzliche Elektrolyte in der Tensidlösung wird die Ionenstärke erhöht, so dass die elektrostatische Abstoßung zwischen den geladenen Kopfgruppen proportional zur Ionenstärke herabgesetzt wird. Dies wiederum vermindert den Platzbedarf der hydrophilen Kopfgruppen, so dass mit wachsender Ionenstärke eine Erniedrigung der cmc erfolgt.

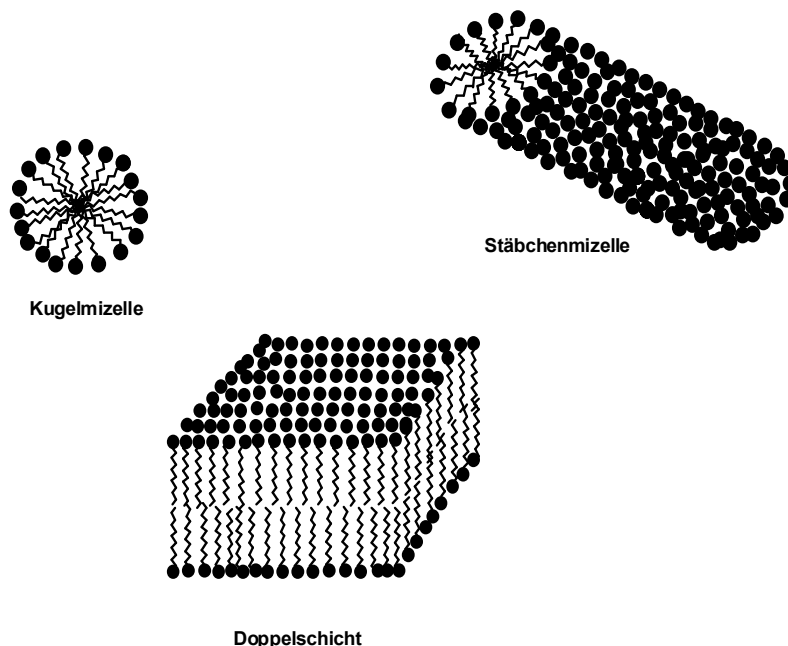
Die Aggregationszahl n kann sehr stark variieren, je nachdem welches Tensid vorliegt. Bei ionischen Tensiden liegt der durchschnittliche Wert zwischen 10 und 170, während für Niotenside (nichtionische Tenside) dieser Wert zwischen 30 und 10500 variieren kann. In den SDS-Molekülen ist die negative Ladung in der Kopfgruppe lokalisiert, so dass elektrostatische Abstossungskräfte eine große Rolle spielen. Daher findet man in wässriger Lösung für geladene (ionische) Tenside auch relativ kleine Aggregationszahlen von $n < 100$. Beim Einbau eines geladenen Tensidmoleküls in die

gleichgeladene Mizelle ist elektrostatische Arbeit zu leisten, so dass ionische Tenside wie Natriumdodecylsulfat höhere *cmc*-Werte aufweisen als beispielsweise nichtionische, ungeladene Vertreter.^[87,93]

Tab. 14: Aggregationszahlen *n* für Natriumdodecylsulfat (SDS) - Mizellen in Wasser und wässrigen Natriumchlorid-Lösungen bei 25 °C (links). Aggregationszahlen für SDS-Mizellen in Wasser in Abhängigkeit von der Temperatur (rechts).^[93,94]

Aggregationszahl <i>n</i>		<i>T</i> [°C]	Aggregationszahl <i>n</i>
Wasser	80	22.1	75
0.1 M NaCl	112	31.7	68
0.2 M NaCl	118	41.5	59
0.4 M NaCl	126	51.4	49

Zwischen der Struktur der Tenside (Aufbau von Alkylkette und Kopfgruppe) und der Geometrie der Mizellen besteht ein direkter Zusammenhang. So bilden kegelförmige Tenside Kugelmizellen aus, während keilförmige Tenside zu Stäbchenmizellen führen. Darüber hinaus kennt man noch inverse Kugel- und Stäbchenmizellen sowie flächige Doppelschichten. SDS-Mizellen zählen zur Gruppe der Kugelmizellen. Das untere Schema zeigt eine Auswahl der möglichen Aggregationsformen am Beispiel der Kugel- und Stäbchenmizelle sowie der Doppelschicht.



Um mizellare Strukturen vorhersagen zu können, betrachtet man den sogenannten Packungsparameter $\Phi = V/A \cdot L$. Dabei ist V das Volumen der hydrophoben Gruppe in der Mizelle, L die Länge der Alkylkette im gestreckten Zustand und A der Platzbedarf der hydrophilen Gruppe an der Oberfläche. Der Parameter Φ bestimmt also, welche Aggregate von den einzelnen Tensiden bevorzugt gebildet werden. Die untere Tabelle zeigt die Variationsbreite der mizellaren Strukturen anhand der zugrunde liegenden Werte für den Packungsparameter Φ .

Tab. 15: Packungsparameter Φ und mögliche mizellare Strukturen. Der Parameter bestimmt, welche Form von den Tensidmolekülen oberhalb der kritischen Mizellkonzentration eingenommen wird (Abkürzungen siehe Text).

Φ	Aggregate	Packungsparameter Φ der SDS-Mizelle
< 0.33	Kugelmizellen	<p>SDS</p> $V = \frac{1}{3} \pi r^2 L \quad A = \pi r^2$ $\Phi = \frac{V}{AL} = \frac{1/3 \pi r^2 L}{\pi r^2 L} = 1/3$
$0.33 - 0.5$	Zylindrische Mizellen	
$0.5 - 1.0$	Vesikel, Doppelschicht-Struktur	
1.0	planare Doppelschicht	
> 1.0	inverse Mizellen	

Der Packungsparameter Φ verdeutlicht, weshalb die kegelförmigen SDS-Moleküle oberhalb der kritischen Mizellbildungskonzentration cmc_{SDS} kugelförmige Mizellen ausbilden. Allgemein gilt, dass konische und kegelförmige Tenside zu Kugelmizellen neigen, während prisma- und keilförmige Tenside zu Stäbchenmizellen führen. Zylinderförmige Tenside hingegen bevorzugen die Bildung von flächigen Geometrien wie Diskenmizellen.

Die Aggregation von Tensiden in wässriger Lösung zu höher organisierten Strukturen ist im Wesentlichen darauf zurückzuführen, dass das System bestrebt ist, die ungünstige Grenzfläche zwischen Wasser und den hydrophoben Resten zu minimieren. Verschiedene Faktoren können dabei einen Einfluss auf die Strukturen von Mizellen haben. So bewirkt eine Änderung der Ionenkonzentration oder des pH-Wertes eine Änderung von A , während die Länge L durch Variation der Alkylketten verändert werden kann. Auch die Temperatur spielt eine Rolle. Hier ist nämlich zu beachten, dass eine Mizellbildung erst auftreten kann, wenn der sogenannte Krafft-Punkt überschritten ist. Dem Zustandsdiagramm (Abb. 55) zufolge stellt er den Schnittpunkt von Löslichkeits- und cmc -Kurve dar. Unterhalb der Krafft-Temperatur geht die Tensidlösung in eine trüb erscheinende Suspension über, so dass eine Mizellbildung überhaupt nicht mehr möglich ist. Das Tensid verhält sich dann wie ein gewöhnlicher Feststoff.

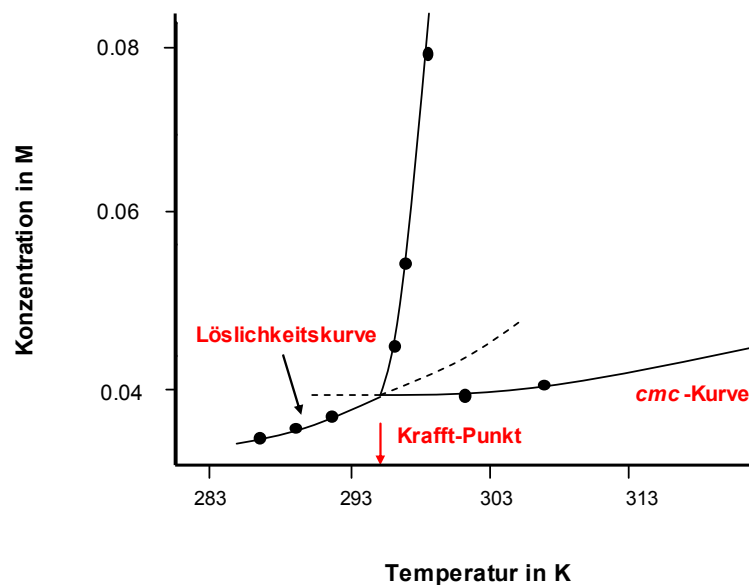


Abb. 55: Schematisches Zustandsdiagramm eines binären Tensid-Wasser-Gemisches in der Nähe des Krafft-Punktes.^[89]

Die Aggregationsformen werden nicht nur von geometrischen Faktoren und der Temperatur bestimmt. So kann auch die Tensidkonzentration einen Formwechsel herbeiführen. Daher beobachtet man bei SDS und vielen anderen Systemen mit Zunahme der Tensidkonzentration einen Übergang von der sphärischen Kugel- in die größere zylinderförmige Stäbchenmizelle. Die Konzentration, bei der dieser Übergang stattfindet, wird als zweite Mizellbildungs- oder Übergangskonzentration c_t bezeichnet und kann in einfacher Weise durch Leitfähigkeitsmessungen nachgewiesen werden. Für Natriumdodecylsulfat beispielsweise wird dieser Übergang bei einer Konzentration von 65 mM und einer Temperatur von 25 °C beobachtet. Ebenso wie die erste Mizellbildungskonzentration cmc wird auch die Übergangskonzentration c_t durch Zusatz von Cotensiden oder Fremdelektrolyten herabgesetzt.

Mit steigender Temperatur wird der hydrophobe Effekt kleiner. Daher ist verständlich, dass eine Temperaturerhöhung nicht nur die Mizellbildung erschwert, sondern auch zu deren Zerstörung führen kann. Und tatsächlich wurde bei zahlreichen Tensiden eine Rückbildung von Stab- zu Kugelmizellen beobachtet. Weitaus interessanter jedoch ist der Einfluss von Tensidmischungen. So kann die Beimischung einer anderen Komponente (Cotensid) zu einer Tensidlösung nicht nur die gegebenen Mizellstrukturen verändern, sondern vollkommen neue, unerwartete Aggregate mit interessanten Eigenschaften können die Folge sein.^[87,89,93]

6.5.2 Fluoreszenzspektroskopische Bestimmung der kritischen Mizellbildungskonzentration cmc_{SDS} von Natriumdodecylsulfat (SDS) in Phosphatpufferlösung (pH 7.4)

Die Bestimmung der kritischen Mizellbildungskonzentration cmc_{SDS} von Natriumdodecylsulfat ist mithilfe der Fluoreszenz-Sonden-Technik möglich und wurde von KALYANASUNDARAM und THOMAS erstmals 1976 durchgeführt. Aufgrund seiner photophysikalischen Eigenschaften hat sich der polyaromatische Kohlenwasserstoff Pyren besonders bewährt, denn je nach Lösungsmittel beobachtet man im Emissionsspektrum von Pyren ($\lambda_{exc.} = 336 \text{ nm}$) signifikante Unterschiede in der Schwingungsfeinstruktur. Von insgesamt fünf Schwingungsbanden zwischen 370 und 400 nm zeigt das Spektrum zwei charakteristische Banden I_I bei $\lambda \approx 372 \text{ nm}$ und I_{III} bei $\lambda \approx 383 \text{ nm}$. In Abhängigkeit von der Polarität des Lösungsmittels kann das Verhältnis dieser Banden (I_{III}/I_I) sehr stark variieren. Die untere Tabelle verdeutlicht das am Beispiel von acht unterschiedlich polaren Lösungsmitteln.^[95,96]

Tab. 16: Relative Fluoreszenzintensitäten der Banden I_I und I_{III} im Emissionsspektrum von Pyren in verschiedenen Lösungsmitteln.^[95]

	ϵ	relative Fluoreszenzintensitäten	
		I_I	I_{III}
Dimethylsulfoxid	46.68	1.00	0.53
Wasser	78.54	1.00	0.63
Methanol	32.7	1.00	0.75
<i>n</i>-Butanol	17.5	1.00	0.98
Chloroform	4.80	1.00	0.78
Benzol	2.28	1.00	0.88
<i>n</i>-Hexan	1.89	1.00	1.65
Cyclohexan	2.02	1.00	1.68

Das Intensitätsverhältnis dieser Banden kann gezielt genutzt werden, um die kritische Mizellbildungskonzentration von Tensiden zu bestimmen, da das Innere einer Mizelle gegenüber der wässrigen *bulk*-Phase eine deutlich andere Polarität aufweist. So ist es möglich, die cmc von verschiedenen Tensiden mithilfe der Fluoreszenz-Sonde Pyren zu

bestimmen. An- und kationische Tenside wie Natriumdodecylsulfat (SDS), Natriumdecylulfat (SLS), Cetyltrimethylammoniumbromid (CTAB) und Dodecyltrimethylammoniumbromid (DAC) können ebenso untersucht werden wie nichtgeladene Vertreter (Triton X-100, Igepal CO-630). Ein indirekter Beweis für die Existenz von Mizellen ist deren Befähigung zur Solubilisation. Darunter versteht man die Fähigkeit, Verbindungen zu lösen, die in dem benutzten Dispersionsmittel (meist Wasser) nur gering oder nicht löslich sind. Anschaulich kann man sich den Vorgang dann so vorstellen, dass die Pyrenmoleküle in die hydrophoben Bereiche der Kugel- oder Stäbchenmizellen eingebaut werden. In wässriger Lösung liegt das Intensitätsverhältnis (I_{III}/I) bei ca. 0.6, während in mizellarer Phase ein Verhältnis von ca. 0.9 erhalten wird.^[95,96]

Fluoreszenz wird dann beobachtet, wenn elektronisch angeregte Moleküle spontan Licht emittieren. Die Emission von Licht tritt bei der Fluoreszenz allerdings nur so lange auf, wie die Moleküle auch durch Lichtabsorption angeregt werden. Bei der Phosphoreszenz, eine weitere Form der Photolumineszenz, ist die Emission des Lichts zeitlich verzögert, so dass im Gegensatz zur Fluoreszenz gegebenenfalls auch nach Stunden der Anregung noch emittiertes Licht beobachtet wird. Im Jablonski-Termschema werden die entscheidenden physikalischen Prozesse aufgezeigt, die bei der Fluoreszenz und der Phosphoreszenz von Bedeutung sind. Durch Absorption von Licht werden die Moleküle nach dem Franck-Condon-Prinzip (vertikaler elektronischer Übergang) zunächst vom elektronischen Grundzustand S_0 in einen elektronisch angeregten Schwingungsterm des ersten Singulettzustandes S_1^* angeregt (**Prozess A**). Durch Stöße mit Nachbarmolekülen verlieren diese Moleküle Energie, so dass sie strahlungslos (*internal conversion*) vom Zustand S_1^* rasch in den des elektronisch angeregten Schwingungsgrundzustandes S_1 gelangen (**Prozess B**). Für die angeregten Moleküle gibt es nun verschiedene Möglichkeiten, den elektronischen Grundzustand S_0 wieder zu erreichen. Einerseits können die Moleküle von S_1 ausgehend strahlungslos in den Grundzustand S_0 übergehen (**Prozess C**). Andererseits tritt Fluoreszenz auf, wenn die angeregten Moleküle beim Übergang von S_1 nach S_0 spontan Licht emittieren (**Prozess D**). Durch *intersystem crossing* können die Moleküle auch den ersten angeregten Triplettzustand T_1 erreichen (**Prozess E**). Von dort aus gelangen sie zunächst strahlungslos in das tiefste Schwingungsniveau des Triplettzustandes T_1 , um schließlich nach erneutem *intersystem crossing* durch Lichtemission (Phosphoreszenz)

wieder den Singulett Grundzustand S_0 zu erreichen (**Prozess F**). Das Fluoreszenzspektrum tritt im Gegensatz zum Absorptionsspektrum bei einer Wellenlänge auf, die größer ist als die des eingestrahnten Lichtes. Im Emissionsspektrum von Pyren ($\pi \leftarrow \pi^*$ -Emission) entspricht die Bande I bei $\lambda \approx 372$ nm dem $(0 \leftarrow 0)$ -Schwingungsübergang, während die Bande bei III bei $\lambda \approx 383$ nm auf den $(0 \leftarrow 2)$ -Übergang zurückgeführt werden kann. Insgesamt ist das Spektrum durch fünf gut aufgelöste Banden zwischen 370 bis 400 nm gekennzeichnet.^[88,95,96]

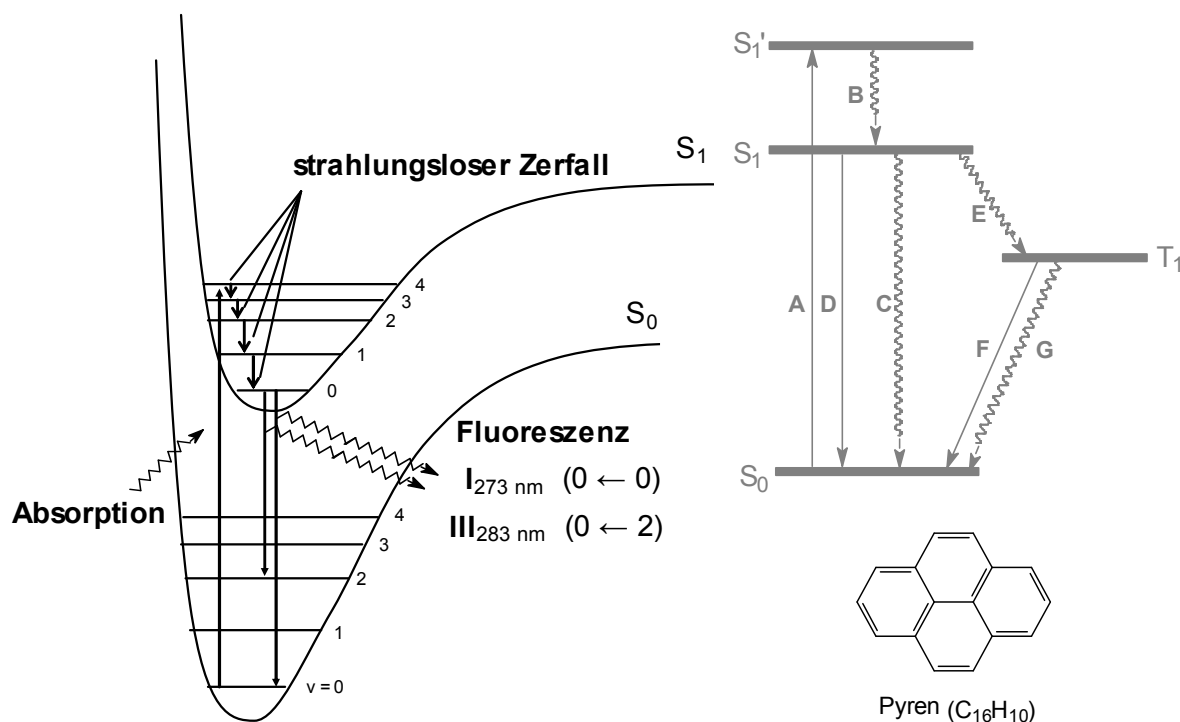


Abb. 56: Einzelschritte, die bei der Sonde Pyren zur Fluoreszenz führen. Nach der Absorption wird Energie an die Nachbarmoleküle abgegeben (strahlungsloser Übergang auf der Leiter der Schwingungsniveaus). Fluoreszenz wird dann beobachtet, wenn vom Schwingungsgrundzustand des oberen elektronischen Niveaus ($v' = 0$) Übergänge in die unteren Niveaus erfolgen ($v = 0, 1, 2, \dots$). Die Bande I entspricht dem $(0 \leftarrow 0)$ -Schwingungsübergang, während die Bande III auf den $(0 \leftarrow 2)$ -Übergang zurückgeführt werden kann.

Gegenüber reinem Wasser sollte die kritische Mizellbildungskonzentration cmc_{SDS} von Natriumdodecylsulfat in Phosphatpufferlösung einen deutlich geringeren Wert aufweisen. Daher wurde das solvensabhängige Verhältnis (III/I) der Schwingungsbanden I und III auch hier genutzt, um die kritische Mizellbildungskonzentration zu bestimmen (cmc_{SDS} in Pufferlösung aus NaH_2PO_4 und Na_2HPO_4 , 0.1 M, pH 7.38). Zahlreiche UV-spektroskopische Untersuchungen wurden in phosphatgepufferten Systemen in Gegen-

wart von SDS durchgeführt. Um deren Ergebnisse richtig interpretieren zu können, ist es wichtig, auch den Effekt von Fremdelektrolyten auf die cmc_{SDS} zu kennen. Zusätzlich zu den Messungen in Phosphatpufferlösung wurde die cmc_{SDS} auch in reinem Wasser bestimmt (Kontrollmessung).

Zur Bestimmung der kritischen Mizellbildungskonzentration wurde vorab eine Stammlösung (1.0 mM) von Pyren in Dimethylformamid angesetzt. Aliquote davon wurden dann in Messküvetten überführt, so dass die Konzentration in der Messlösung bei jeweils 50 μM lag. Messungen erfolgten in Wasser und Phosphatpuffer (Pufferlösung aus NaH_2PO_4 und Na_2HPO_4 , 0.1 M, pH 7.38) bei jeweils 22 °C. Die Anregungswellenlänge lag bei $\lambda_{\text{exc.}} = 336 \text{ nm}$. Für jede Messung wurde das Emissionsspektrum zwischen 350 und 450 nm aufgezeichnet, wobei zur Bestimmung der cmc_{SDS} die Intensitäten der Banden I bei $\lambda \approx 372 \text{ nm}$ und III bei $\lambda \approx 383 \text{ nm}$ betrachtet wurden. Das Verhältnis ($I_{\text{III}}/I_{\text{I}}$) beider Banden wurde ermittelt, und daraus dann die cmc -Werte in Wasser und Phosphatpufferlösung abgelesen. Die untere Abbildung stellt das Emissionsspektrum von Pyren in reinem Wasser (links) dem Spektrum in mizellarer Lösung (8.75 mM SDS) gegenüber (rechts).

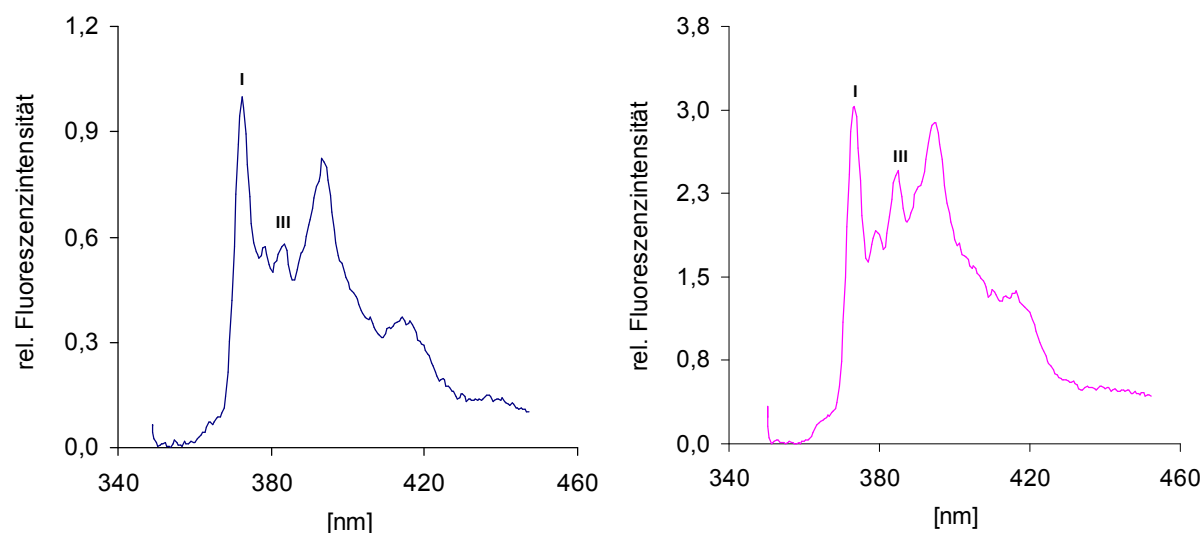


Abb. 57: Emissionsspektren von Pyren (50 μM) in reinem Wasser (links) und in Gegenwart von Natriumdodecylsulfat (SDS, 8.75 mM, rechts) bei 22 °C. In wässriger Lösung liegt das ($I_{\text{III}}/I_{\text{I}}$)-Verhältnis bei 0.55, während in Gegenwart von SDS ein Verhältnis von 0.81 erhalten wird. In reinem Wasser liegen die Maxima bei $\lambda = 372.6 \text{ nm}$ (I) und 383.9 nm (III). Nach Zugabe von SDS liegen diese bei 373.5 nm (I) und 384.4 nm (III).

Um die kritischen Mizellbildungskonzentrationen zu bestimmen, wurden vierzehn verschiedene Konzentrationen an SDS gewählt. Messungen erfolgten sowohl in Wasser als auch in Pufferlösung im Bereich zwischen 0 und 20 mM. Tab. 17 zeigt das Verhältnis (I_{III}/I_I) der relativen Fluoreszenzintensitäten der Banden I_I und I_{III} , die in Abhängigkeit von der SDS-Konzentration erhalten wurden. Abb. 58 zeigt dessen Verlauf über den gesamten untersuchten Konzentrationsbereich. In reinem Wasser wurde die cmc_{SDS} zu 8.15 mM bestimmt, ein Betrag, der für reines Wasser auch zu erwarten war. In Phosphatpufferlösung (pH 7.4) hingegen wurde mit 1.87 mM ein um mehr als das Vierfache niedrigerer Wert ermittelt. Die Auswertung erfolgte in beiden Fällen über den Angleich an sigmoide Funktionen.^[97]

Tab. 17: Verhältnis (I_{III}/I_I) der relativen Fluoreszenzintensitäten der Banden I_I und I_{III} in Abhängigkeit von der SDS-Konzentration in Wasser und Phosphatpufferlösung (0.1 M, pH 7.4) bei 24 °C.

[SDS] [mM]	Wasser	Phosphatpuffer (0.1 M, pH 7.4)
	Intensitätsverhältnis I_{III}/I_I	Intensitätsverhältnis I_{III}/I_I
0	0.55	0.55
0.33		0.55
0.50		0.55
1.00	0.56	0.56
1.50		0.58
2.00	0.55	0.78
2.25		0.81
2.50		0.87
3.00	0.56	0.88
4.00		0.85
5.00	0.55	0.88
7.00	0.57	
8.00	0.67	0.87
8.25	0.70	
8.50	0.75	
8.75	0.82	
9.00	0.81	
11.00	0.82	
13.00	0.82	0.89
20.00	0.83	0.89

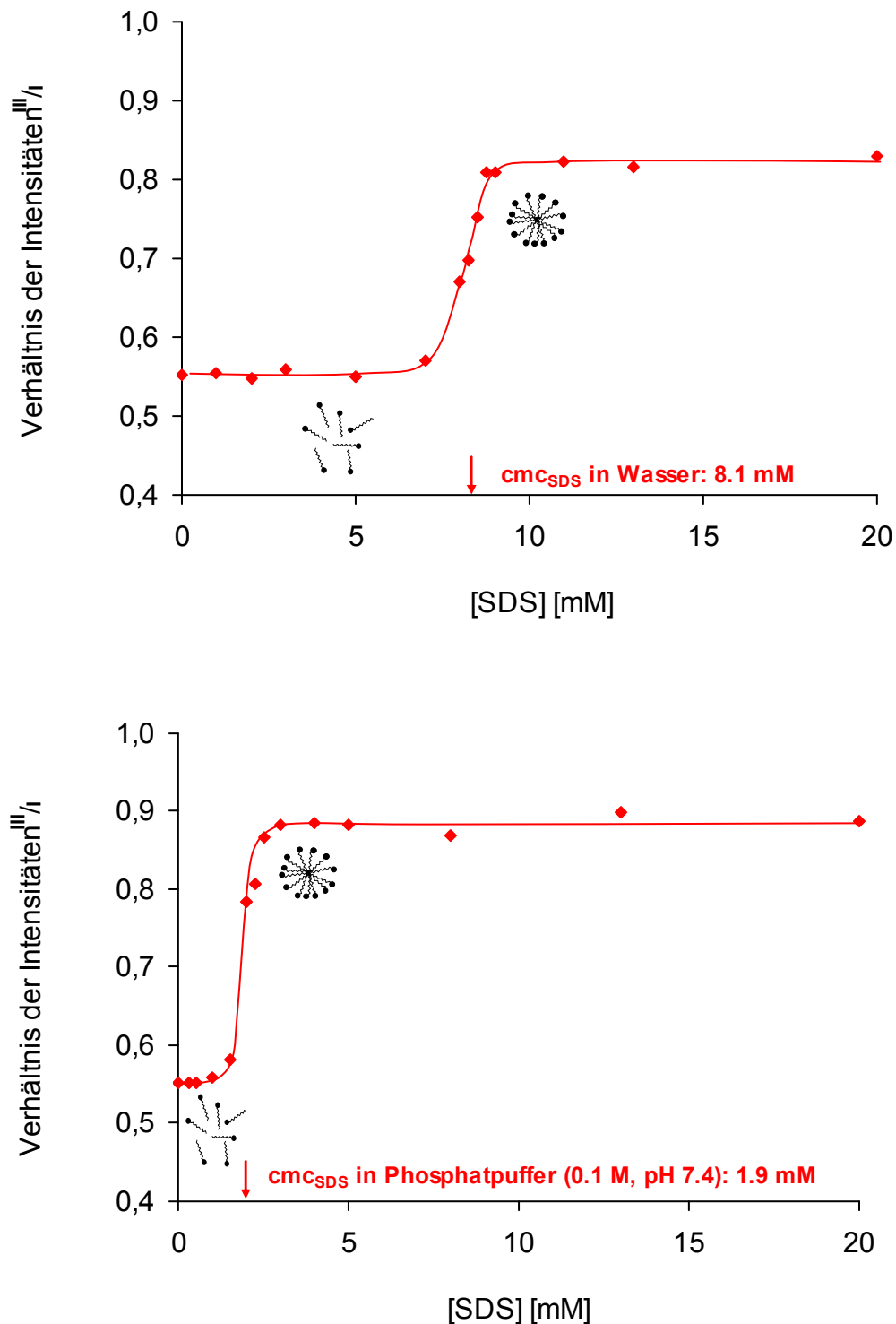


Abb. 58: Bestimmung der kritischen Mizellbildungskonzentration cmc_{SDS} von Natriumdodecylsulfat (SDS) in Wasser (oben) und in Phosphatpufferlösung (0.1 M, pH 7.4, unten) bei Raumtemperatur. Aufgetragen wurde jeweils das Verhältnis der Intensitäten ($I_{||}/I_{\perp}$) in Abhängigkeit von der SDS-Konzentration. In Pufferlösung wurde mit 1.9 mM ein deutlich niedrigerer Wert für die cmc_{SDS} ermittelt.

In Abhängigkeit von der SDS-Konzentration zeigt das Intensitätenverhältnis (I_{III}/I_I) in beiden Fällen einen S-förmigen Verlauf, der typisch für sigmoide (logistische) Funktionen ist. Wie die Abbildung 59 zeigt, ist die Funktion durch einen einzigen Wendepunkt an der Stelle x_0 gekennzeichnet. Die Funktion ist streng monoton steigend oder fallend und besitzt keine Extrema. Der konzentrationsabhängige Verlauf beider Verhältnisse (I_{III}/I_I) und (I_I/I_{III}) kann mithilfe sigmoider Funktionen leicht beschrieben werden. Aufgrund der Symmetrie ergeben sich dann zwei mögliche Funktionsvorschriften.

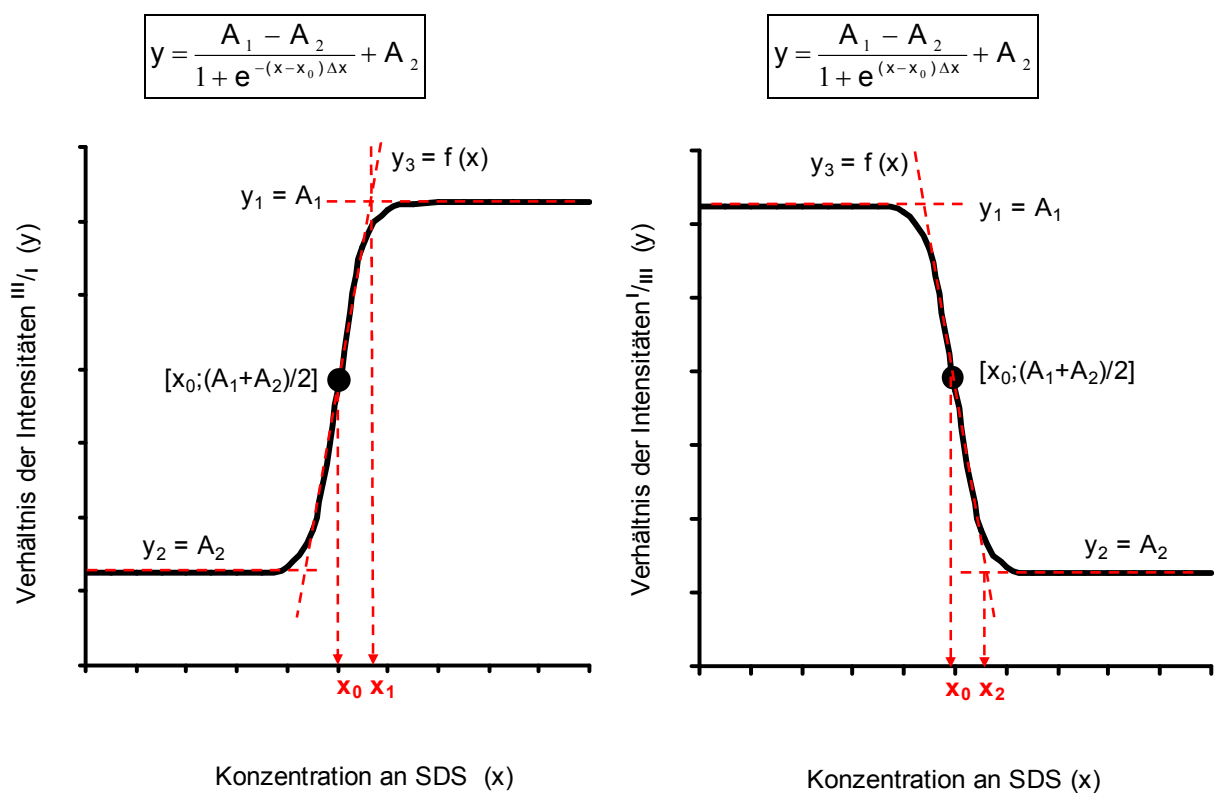


Abb. 59: Verlauf der sigmoiden Funktion und die dazugehörigen Funktionsvorschriften. Die Funktion ist streng monoton steigend (links) oder fallend (rechts) und besitzt keine Extrema. Beide Verhältnisse (I_{III}/I_I) und (I_I/I_{III}) können mithilfe dieser Funktion beschrieben werden.

Zur Bestimmung der kritischen Mizellbildungskonzentrationen wurden die experimentellen Daten (I_{III}/I_I versus [SDS]) an die Vorschrift der sigmoiden Funktion angepasst. Mit 8.15 mM in reinem Wasser und 1.87 mM in Phosphatpufferlösung (pH 7.4) folgen die *cmc*-Werte den Erwartungen und zeigen eine gute Übereinstimmung mit den Literaturdaten (s. Kapitel 6.4.1). Abb. 59 zufolge werden beide Konzentrationen

durch den Wendepunkt an der Stelle x_0 representiert (links). Die folgende Tabelle stellt alle Ergebnisse übersichtlich dar.

Tab. 18: Parameter zur Bestimmung der kritischen Mizellbildungskonzentration x_0 von SDS in Wasser und Phosphatpuffer (pH 7.4) nach Anpassung an die sigmoide Funktion.

	n	X_0	ΔX	A_1	A_2	R^2	$cmc_{\text{gef.}}$	$cmc_{\text{Lit.}}$
Wasser	14	8.15	0.31	0.83	0.56	0.9926	8.15	8.2
Phosphatpuffer pH 7.4	14	1.87	0.19	0.88	0.55	0.9915	1.87	1.5

Bei der Auswertung über das Intensitätenverhältnis (I_{III}/I_1) wurde der Wendepunkt x_0 als tatsächliche Mizellbildungskonzentration identifiziert. Beide Konzentrationen (cmc in Wasser und Phosphatpufferlösung pH 7.4) zeigen eine gute Übereinstimmung mit den Werten aus der Literatur.

AGUIAR, CARPENA, MOLINA-BOLIVAR und RUIZ verwendeten 2002 ebenfalls die Fluoreszenzsonde Pyren und bestimmten die kritische Mizellbildungskonzentration von Natriumdodecylsulfat in wässriger Lösung. Über den umgekehrten Verlauf von (I_{III}/I_1) ermittelten sie ebenfalls die zugehörigen (sigmoiden) Funktionsvorschriften und daraus den Wert für die kritische Mizellbildung. Gute Übereinstimmungen mit dem Literaturwert (8.2 mM) fanden die Autoren jedoch nicht im Wendepunkt x_0 , sondern mit dem darunter liegenden Punkt an der Stelle x_2 , dem Schnittpunkt zwischen der Tangente $y_3 = f(x)$ und der Waagerechten $y_2 = A_2$. So fanden die Autoren für SDS eine cmc von 8.18 mM, während der Wendepunkt x_0 mit 7.62 mM einen deutlich niedrigeren Wert lieferte.^[97] Im Rahmen dieser Arbeit wurde eine cmc_{SDS} – Bestimmung durchgeführt, so dass mit der Messung von AGUIAR, CARPENA, MOLINA-BOLIVAR und RUIZ aus dem Jahre 2002 nur ein zusätzlicher Wert vorliegt. Zur Zeit kann nicht gesagt werden, welcher der Punkte den cmc -Wert widerspiegelt. Um das herauszufinden, sind weitere Untersuchungen (Auswertung nach Anpassung an die sigmoide Funktion) erforderlich.

6.5.3 UV-spektroskopische Untersuchungen zur Wechselwirkung von *N,N'*-Dimethylethyldiamin- (4d), *N,N'*-Di-*n*-butylethyldiamin- (4a), *N,N'*-Di-*n*-hexylethyldiamin- (4b) und *N,N'*-Di-*n*-octylethyldiamin-NONOat (4c) mit dem anionischen Tensid Natriumdodecylsulfat (SDS)

Anhand der lipophilen NONOate **4a – 4c** sollte gezeigt werden, dass SDS in Abhängigkeit von der Konzentration den Zerfall in Pufferlösung (pH 7.4) beschleunigt. Für sechs verschiedene Konzentrationen an SDS wurde der Zerfall von **4a – 4d** in Phosphatpufferlösung bei 22.0 ± 0.1 °C untersucht. Als Lösung wurde jeweils ein Gemisch aus Dinatriumhydrogen- und Natriumdihydrogenphosphat verwendet. Kaliumdihydrogenphosphat konnte nicht verwendet werden, da SDS in Gegenwart von Kaliumionen einen schwerlöslichen Niederschlag aus Kaliumdodecylsulfat bildet. Für das Butyl-NONOat **4a** wurde der Zerfall auch unter physiologischen Bedingungen (pH 7.4, 37°C) untersucht. Tab. 19 gibt eine Übersicht über die gemessenen Geschwindigkeitskonstanten k in Abhängigkeit von der SDS-Konzentration in der Pufferlösung bei 22°C.

Tab. 19: Geschwindigkeitskonstanten k für den Zerfall der NONOate **4a – 4d** in Abhängigkeit von der SDS-Konzentration bei 22.0 ± 0.1 °C.

	Methyl-NONOat	Butyl-NONOat	Hexyl-NONOat	Octyl-NONOat
	4d	4a	4b	4c
[SDS] mM	$k \cdot 10^{-4} [\text{s}^{-1}]$	$k \cdot 10^{-4} [\text{s}^{-1}]$	$k \cdot 10^{-4} [\text{s}^{-1}]$	$k \cdot 10^{-4} [\text{s}^{-1}]$
0	1.29 ± 0.02	0.23 ± 0.01	0.20 ± 0.01^a	0.93 ± 0.01^b
5	1.41 ± 0.03	0.68 ± 0.01	4.64 ± 0.17	-
10	1.47 ± 0.03	1.26 ± 0.02	5.41 ± 0.06	-
26	1.79 ± 0.01	2.78 ± 0.04	5.75 ± 0.09	6.00 ± 0.08
51	2.26 ± 0.02	3.83 ± 0.08	5.76 ± 0.08	5.99 ± 0.04
101	2.97 ± 0.08	5.41 ± 0.03	5.92 ± 0.07	5.83 ± 0.07
200	4.78 ± 0.04	6.00 ± 0.06	6.04 ± 0.05	6.06 ± 0.08

^a Zerfall in Dioxan/Phosphatpuffer (1:4/V:V); ^b Zerfall in Dioxan/Phosphatpuffer (1:1/V:V); Konzentrationen an NONOat: [**4d**] = 0.104 mM, [**4a**] = 0.112 mM, [**4b**] = 0.103 mM und [**4c**] = 0.108 mM

Die Geschwindigkeitskonstanten k in Tab. 19 zeigen deutlich, dass SDS-Mizellen tatsächlich die Freisetzung von NO aus den NONOaten **4a** – **4d** beschleunigen. Die NONOate **4a** bis **4c** zeigen schon bei sehr niedriger SDS-Konzentration einen deutlichen Anstieg in den Werten für k , während beim Methyl-NONOat **4d** ein nur sehr schwacher Anstieg über den gesamten Konzentrationsbereich (0 – 0.2 M SDS) zu beobachten ist. Die Tabelle zeigt, dass im Falle des Butyl-NONOats **4a** der Wert für k um das sechszwanzigfache gesteigert werden konnte, während das Hexyl-NONOat **4b** eine zweiunddreißigfach höhere Geschwindigkeit ergab. Das Methyl-Derivat **4d** zeigt kaum eine Beeinflussung durch SDS. Hier wurde lediglich eine Verdopplung der Geschwindigkeit beobachtet. Abb. 60 zeigt den Verlauf der Geschwindigkeitskonstante k für den NONOat-Zerfall von **4a**, **4b** und **4d** in Abhängigkeit von der SDS-Konzentration.

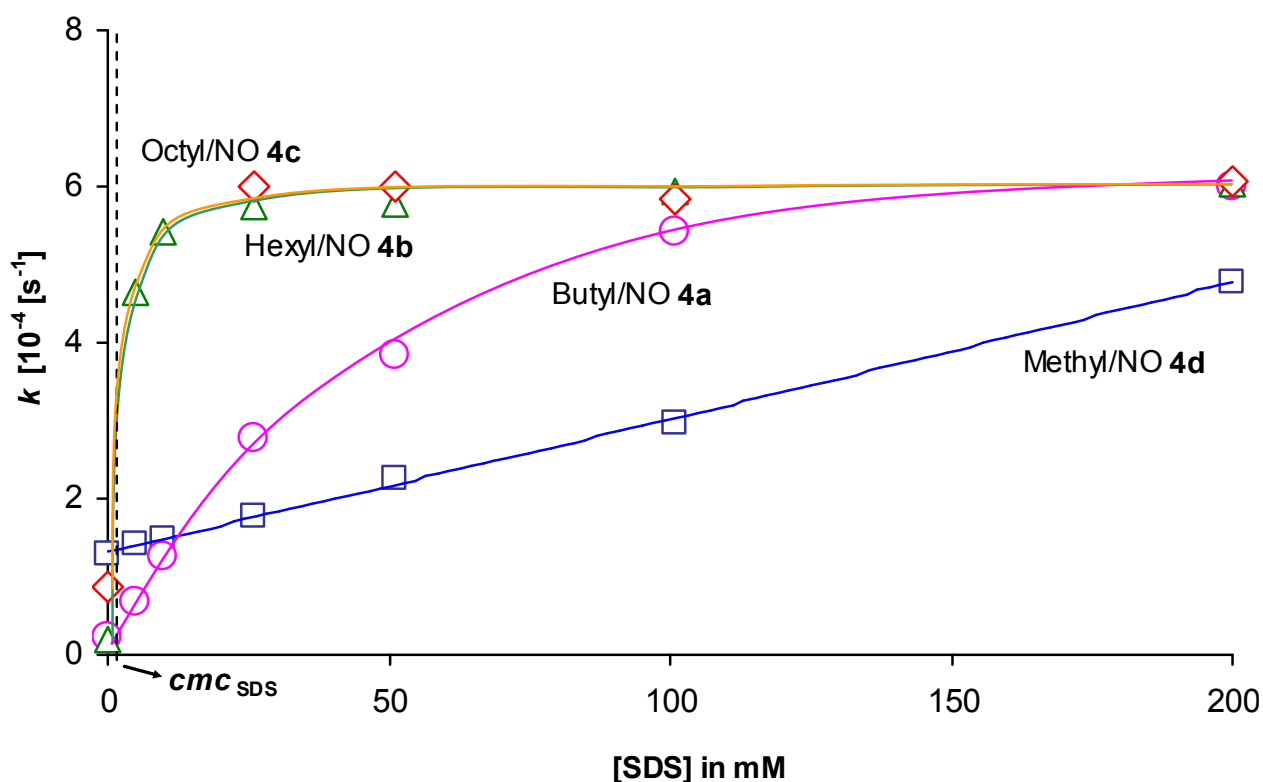


Abb. 60: Verlauf der Geschwindigkeitskonstante k für den NONOat-Zerfall von **4a** – **4d** in Phosphatpufferlösung (pH 7.4) in Abhängigkeit von der SDS-Konzentration ($cmc_{SDS} = 1.9$ mM). Alle Messungen erfolgten bei einer konstanten Temperatur von 22.0 ± 0.1 °C.

Die Kurven für die lipophilen NONOate **4b** und **4c** zeigen einen steileren Verlauf als die der beiden anderen Donatoren **4a** und **4d**. Aufgrund der langen Alkylketten in **4b** und **4c**

wird erwartet, dass der Einbau in die Mizellen schon bei niedriger Mizell-Konzentration quantitativ erfolgt. Für Konzentrationen oberhalb der *cmc* sollte der Wert für *k* einem maximalen Wert entgegenstreben, und tatsächlich wird in beiden Fällen (**4b** und **4c**) der maximale Betrag für die Geschwindigkeitskonstante *k* schon bei einer SDS-Konzentrationen von 26 mM erreicht. Über den gesamten untersuchten Konzentrationsbereich zeigt das Butyl-NONOat **4a** keinen vergleichbaren Kurvenverlauf. Je nach Konzentration an SDS und SDS-Mizellen in der Lösung ist der Zerfall durch unterschiedlich große Geschwindigkeits-konstanten *k* charakterisiert. Es wird erwartet, dass in der *bulk*-Phase gelöste NONOat-Moleküle eine andere Zerfallsgeschwindigkeit zeigen als die Donatoren, die mit den Mizellen bereits in Wechselwirkung getreten sind. So spielen bei Annäherung an die Mizell-Oberflächen auch Coulomb-Wechselwirkungen eine Rolle, denn aufgrund der positiv geladenen Aminogruppen im NONOat sowie der negativ geladenen Mizell-Oberfläche sollte es zu attraktiven Wechselwirkungen kommen. Diese Art der Wechselwirkung wäre dann für die kleineren (hydrophileren) Vertreter **4a** und **4d** von größerer Bedeutung. Der Verlauf von *k* folgt dem und zeigt über den gesamten Konzentrationbereich einen allmählichen Anstieg. Bei den NO-Donatoren **4b** und **4c** sind hydrophobe Wechselwirkungen entscheidend, so dass deren beschleunigte Zerfalls-geschwindigkeit nicht auf die Annäherung an die Mizell-Oberfläche, sondern vielmehr auf den Einbau in die Mizellen zurückgeführt werden kann. Daher beobachtet man in beiden Fällen den maximalen (konstanten) Wert für *k* mit Einsetzen der Mizellbildung ($c \geq cmc_{SDS}$). Die untere Tabelle verdeutlicht nochmals den Effekt der Mizellen auf die Zerfallsgeschwindigkeit der NONOate .

Tab. 20: Geschwindigkeitskonstanten k für den Zerfall der NO-Donatoren **4a** (0.104 mM), **4b** (0.112 mM) und **4d** (0.103 mM) in Ab- und Anwesenheit von 0.2 mM SDS in Phosphatpufferlösung (pH 7.4) bei $22.0 \pm 0.1^\circ\text{C}$.

	SDS [mM]	$k [10^{-4} \text{ s}^{-1}]$	Faktor
Methyl/NO 4d	0	1.29 ± 0.02	
	200	4.78 ± 0.04	2
Butyl/NO 4a	0	0.23 ± 0.01	
	200	6.00 ± 0.06	26
Hexyl/NO 4b	0	0.20 ± 0.01	
	200	6.04 ± 0.05	32

Zusätzlich zu den Messungen bei 22°C wurde der Zerfall des Butyl-NONOats **4a** auch unter physiologischen Bedingungen (pH 7.4, 37°C) verfolgt. Als Pufferlösung diente wiederum ein Gemisch aus NaH_2PO_4 und Na_2HPO_4 , und die Konzentration an **4a** in der Küvette betrug 0.114 mM. Der NONOat-Zerfall wurde für fünf verschiedene Konzentrationen (0 – 0.1 M SDS) verfolgt. Auch unter physiologischen Bedingungen zeigen die Werte für k einen allmählichen Anstieg, doch aufgrund der höheren Temperatur besitzen alle Geschwindigkeitskonstanten einen etwa vier bis fünffach höheren Betrag. So konnte in Gegenwart von 0.1 M SDS die Konstante k um das zweiundzwanzigfache gesteigert werden, während sich bei 22°C ein ähnlich hoher Faktor von 24 ergab. Tabelle 21 stellt die Ergebnisse aus beiden Messungen gegenüber.

Tab. 21: Geschwindigkeitskonstanten k für den Zerfall von **4a** in Phosphatpufferlösung (pH 7.4) in Gegenwart von 0.1 M SDS bei 22.0 ± 0.1 °C und 37.0 ± 0.1 °C.

Zerfall bei 22.0 ± 0.1 °C		Zerfall bei 37.0 ± 0.1 °C	
[SDS] mM	$k \cdot 10^{-4} [\text{s}^{-1}]$	[SDS] mM	$k \cdot 10^{-4} [\text{s}^{-1}]$
0	0.229 ± 0.002	0	1.116 ± 0.069
5	0.683 ± 0.012	5	3.691 ± 0.054
10	1.262 ± 0.020	10	5.938 ± 0.051
26	2.779 ± 0.042	26	11.49 ± 0.28
51	3.828 ± 0.075	52	18.23 ± 0.17
101	5.407 ± 0.025	100	24.41 ± 0.06
Faktor 24		Faktor 22	

Abb. 61 zeigt den Verlauf der Geschwindigkeitskonstanten k in Abhängigkeit von der SDS-Konzentration für beide Temperaturen (22.0 ± 0.1 und 37.0 ± 0.1 °C).

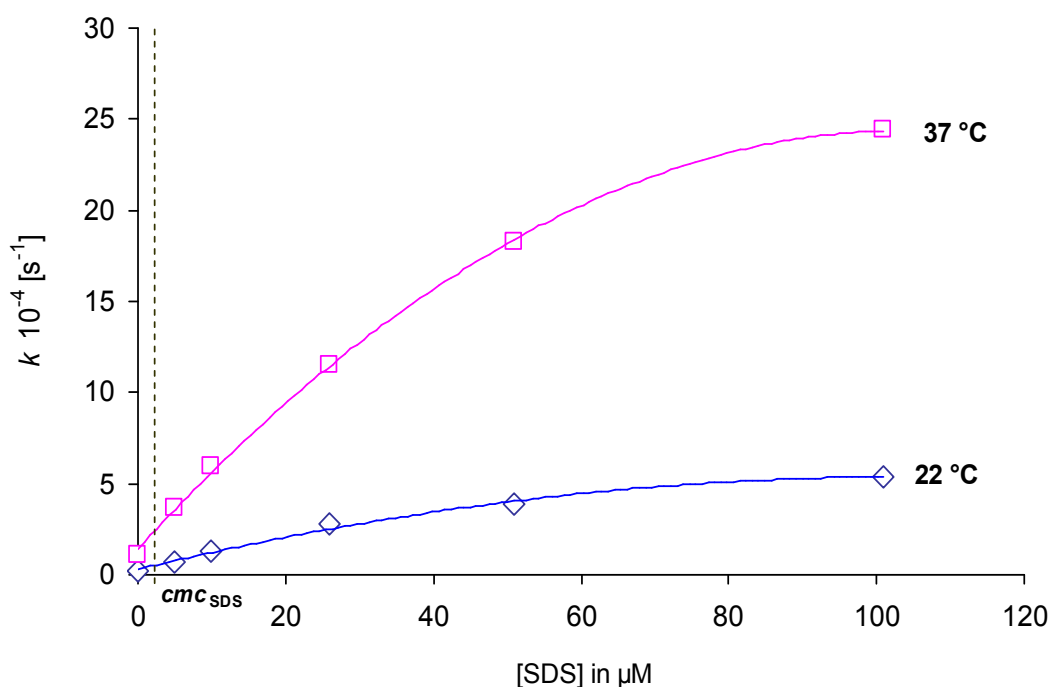


Abb. 61: Verlauf der Geschwindigkeitskonstanten k für den NONOat-Zerfall von **4a** in Phosphatpufferlösung (pH 7.4) in Abhängigkeit von der SDS-Konzentration ($\text{cmc}_{\text{SDS}} = 1.9 \text{ mM}$). Gezeigt wird der Verlauf für zwei verschiedene Temperaturen. Eine Messreihe erfolgte bei 22.0 ± 0.1 °C, während die andere bei 37.0 ± 0.1 °C durchgeführt wurde.

6.5.4 Mechanistische Betrachtungen zum Zerfall der hydrophoben *N*-Diazoniumdiolate unter mizellarer Katalyse

Seit über 30 Jahren ist bekannt, dass die Geschwindigkeit einiger chemischer Reaktionen in Gegenwart von mizellaren Systemen beschleunigt werden kann. Die Katalyse kann dabei sowohl von normalen Kugelmizellen in wässriger Lösung als auch von inversen Mizellen in unpolaren Lösungsmitteln gesteuert werden. Der Einfluss derartiger Strukturen auf die Geschwindigkeit von Reaktionen kann auf zwei Arten von Wechselwirkungen zurückgeführt werden, den elektrostatischen Kräften und den hydrophoben Effekten. Elektrostatische Kräfte beispielsweise können auf den Übergangszustand einer Reaktion einwirken, indem sie einen direkten Einfluss auf die Ladungsverteilung ausüben. So sollten positiv geladene Mizellen bei nukleophilen Substitutionsreaktionen dann eine Rolle spielen, wenn es beispielsweise zur Reaktion eines negativ geladenen Nukleophils und einem neutralen Substrat kommt. Aufgrund der Vielzahl an positiven Ladungen sollten die Mizellen im Übergangszustand zur Delokalisierung der negativen Ladung beitragen, so dass insgesamt die Aktivierungsenergie herabgesetzt wird und eine beschleunigte Reaktion die Folge ist. Ähnlich wirken sich die Ladungen auch auf die alkalische Hydrolyse von verschiedenen *p*-Nitrophenylestern aus. Während positiv geladene Mizellen aus *N*-Dodecyltrimethylammoniumbromid deren Hydrolyse beschleunigen, beobachtet man im Falle des anionischen Vertreter Natriumlaurylsulfat eine Verzögerung. Die positiven Ladungen auf der Mizelloberfläche erhöhen nicht nur die Konzentration an OH^- -Ionen in der Nähe der Grenzfläche, sondern tragen gleichzeitig auch zur Delokalisierung der negativen Ladung im Übergangszustand bei, so dass insgesamt eine beschleunigte Hydrolyse beobachtet wird. Daher kommt es im Falle von Natriumlaurylsulfat-Mizellen auch zu einer Verzögerung, da die negativ geladenen Mizellen den Übergangszustand destabilisieren. Nichgeladene Mizellen zeigten folglich keinen Effekt auf die Hydrolysegeschwindigkeit. Mizellare Effekte wurden bei vielen anderen Reaktionen beobachtet und sind intensiv untersucht worden. So zum Beispiel auch für aliphatische und aromatische nukleophile Substitutionsreaktionen.^[93,98,99]

Bei der mizellaren Katalyse ist die Ladungsverteilung auf der Mizelloberfläche von entscheidender Bedeutung. Um die katalytische Wirkung von Mizellen auf den Zerfall der NONOate gezielt ausnutzen zu können, sollten die Moleküle, wie in der unteren

Abbildung gezeigt, in die hydrophoben Bereiche *eintauchen*, so dass die polare Kopfgruppe (NONO-Gruppe) unmittelbar der lokalen pH-Wert-Erniedrigung ausgesetzt ist. Unter diesen Voraussetzungen würde man dann die maximale Zerfallsgeschwindigkeit beobachten. Die Positionierung der Donatoren **4a** – **4c** in unmittelbarer Nähe zu den Protonen der elektrischen Doppelschicht ist also von ausschlaggebender Bedeutung. Hier zeigt sich zudem die Bedeutung der hydrophoben Wechselwirkungen, denn gegenüber hydrophilen NONOaten auf Basis von Polyaminen sollten gerade die hydrophob modifizierten *N*-Diazeniumdiolate bevorzugt in die hydrophoben Bereiche von Mizellen *eintauchen* können.

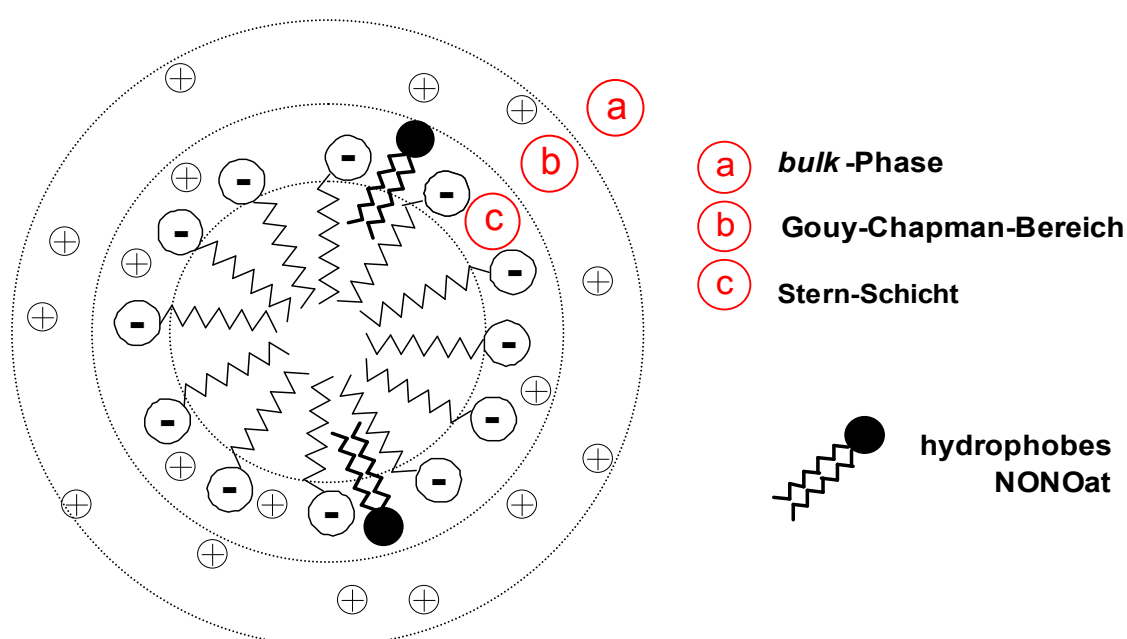
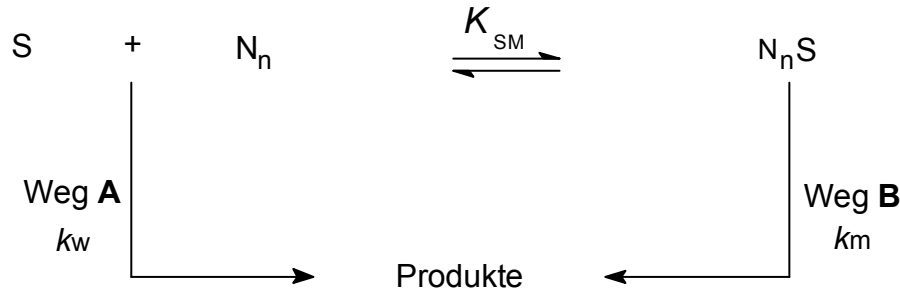


Abb. 62: Vereinfachte Modellvorstellung zum Einbau der lipophilen NONOate **4a** – **4c** in die SDS-Mizellen. Aufgrund von hydrophoben Wechselwirkungen wird erwartet, dass die Alkylschwänze in die hydrophoben Bereiche der Mizelle eintauchen.

Beim mizellvermittelten Zerfall der NONOate **4a** – **4c** spielen zwei Zerfallswege eine Rolle. Einmal kann die Geschwindigkeit für den Zerfall dem in reiner Pufferlösung (*bulk*-Phase) entsprechen (Weg **A**, k_w), andererseits kann der Zerfall aber auch nach Wechselwirkung mit den Mizellen erfolgen (Weg **B**, k_m).^[93] Unabhängig von der Art der Wechselwirkung folgt der NONOat-Zerfall stets einem Geschwindigkeitsgesetz erster Ordnung, und die Konstanten k_{eff} , die bei den UV-spektroskopischen Untersuchungen erhalten werden, setzen sich aus den jeweiligen Teilbeträgen (Weg **A** und **B**) zusammen. Für k_{eff} gelten die Beziehungen (18) und (19), wobei $[\text{NONO}]_w$ die

Konzentration an NONOat-Molekülen in der *bulk*-Phase widerspiegelt und $[\text{NONO}]_m$ den mizellar gebundenen Anteil ausmacht ($[\text{NONO}]_w + [\text{NONO}]_m = [\text{NONO}]$).



$$r_{\text{Zerfall}} = -\frac{d[\text{NONO}]}{dt} = k_{\text{eff}}[\text{NONO}] = k_w[\text{NONO}]_w + k_m[\text{NONO}]_m \quad (18)$$

$$k_{\text{eff}} = k_w \frac{[\text{NONO}]_w}{[\text{NONO}]} + k_m \frac{[\text{NONO}]_m}{[\text{NONO}]} \quad (19)$$

Ebenso wie die Mizellbildung selbst kann auch deren Wechselwirkung mit NONOat-Molekülen mithilfe des Massenwirkungsgesetzes (MWG) beschrieben werden. Geht man idealerweise von einem 1:1 Komplex ($[\text{N}_n\text{S}] = [\text{NONO}]_m$) aus, so folgt für die Bindungskonstante K_{SM} und die Geschwindigkeitskonstante k_{eff}

$$K_{\text{SM}} = \frac{[\text{NONO}]_m}{[\text{N}_n] \cdot [\text{NONO}]_w} \quad (20)$$

$$\begin{aligned} k_{\text{eff.}} &= k_w \frac{[\text{NONO}]_w}{[\text{NONO}]} + k_m K_{\text{SM}} [\text{N}_n] \frac{[\text{NONO}]_w}{[\text{NONO}]} \\ &= (k_w + k_m K_{\text{SM}} [\text{N}_n]) \cdot \frac{[\text{NONO}]_w}{[\text{NONO}]} \end{aligned} \quad (21)$$

Berücksichtigt man, dass $\frac{[\text{NONO}]_w}{[\text{NONO}]} + \frac{[\text{NONO}]_m}{[\text{NONO}]} = 1$ ist, folgt für die Gleichgewichtskonstante K_{SM} , die Konzentration $[\text{NONO}]_w$ in der *bulk*-Phase sowie für die Geschwindigkeitskonstante k_{eff}

$$K_{SM} = \frac{[\text{NONO}]_m}{[N_n] \cdot [\text{NONO}]_w} = \frac{([\text{NONO}] - [\text{NONO}]_w)}{[N_n] \cdot [\text{NONO}]_w} \quad (22)$$

$$\frac{[\text{NONO}]_w}{[\text{NONO}]} = \frac{1}{1 + K_{SM} [N_n]} \quad (23)$$

$$k_{\text{eff.}} = \frac{k_w + k_m [N_n] K_{SM}}{1 + K_{SM} [N_n]} \quad (24)$$

Die Konzentration an Mizellen in der Lösung ist gegeben durch $[N_n] = ((c - cmc) \cdot n^{-1})$, wobei n die Aggregationszahl, cmc die kritische Mizellbildungs- und c die tatsächliche Tensid-konzentration sind. Berücksichtigt man, dass $[N_n]$ über die drei genannten Größen zugänglich ist, erhält man nach Umstellen die linearisierte Form der Gleichung (24).

$$\frac{1}{k_w - k_{\text{eff.}}} = \frac{1}{k_w - k_m} + \left(\frac{1}{k_w - k_m} \right) \left(\frac{n}{K_{SM} (c - cmc)} \right) \quad (25)$$

Hier stellt k_{eff} die Geschwindigkeitskonstante dar, die bei der kinetischen Untersuchung (UV-Spektroskopie) erhalten wird. Bei der Auftragung von $1/(k_w - k_{\text{eff}})$ gegen $1/(c - cmc)$ erhält man eine Gerade, deren Steigung $n/(K_{SM}(k_w - k_m))$ und Achsenabschnitt $1/(k_w - k_m)$ Wertepaare für k_m und K_{SM} liefern. Der Betrag der Konstanten k_w entspricht dem Zerfall von **4a** – **4d** in reiner Pufferlösung. Die Tabelle 22 zeigt die zugehörigen Wertepaare, die bei der Auftragung von $1/(k_w - k_{\text{eff}})$ gegen $1/(c - cmc)$ verwendet wurden. In Abb. 63 werden die dazugehörigen Geraden gezeigt.

Tab. 22: Wertepaare zur Bestimmung der Geschwindigkeitskonstanten k_m und der Bindungskonstante K_{SM} für den Zerfall der NONOate **4a** – **4d** in Abhängigkeit von der SDS-Konzentration ($cmc_{SDS} = 1.9 \text{ mM}$, $n = 112$)^[93] bei $22.0 \pm 0.1 \text{ }^\circ\text{C}$.

$([SDS] - cmc)^{-1}$ [M] ⁻¹	Methyl-NONOat $(k_w - k_{SDS})^{-1}$ [s]	Butyl-NONOat $(k_w - k_{SDS})^{-1}$ [s]	Hexyl-NONOat $(k_w - k_{SDS})^{-1}$ [s]	Octyl-NONOat $(k_w - k_{SDS})^{-1}$ [s]
400	80000 ± 5373	21787 ± 465	2251 ± 84	-
133	54645 ± 2562	9634 ± 164	1919 ± 19	-
43	20120 ± 371	3914 ± 60	1799 ± 26	1952 ± 27
21	10331 ± 21	2775 ± 56	1796 ± 25	1956 ± 12
10	5952 ± 199	1929 ± 9	1746 ± 20	2016 ± 26
5	2861 ± 14	1733 ± 17	1760 ± 13	1929 ± 27

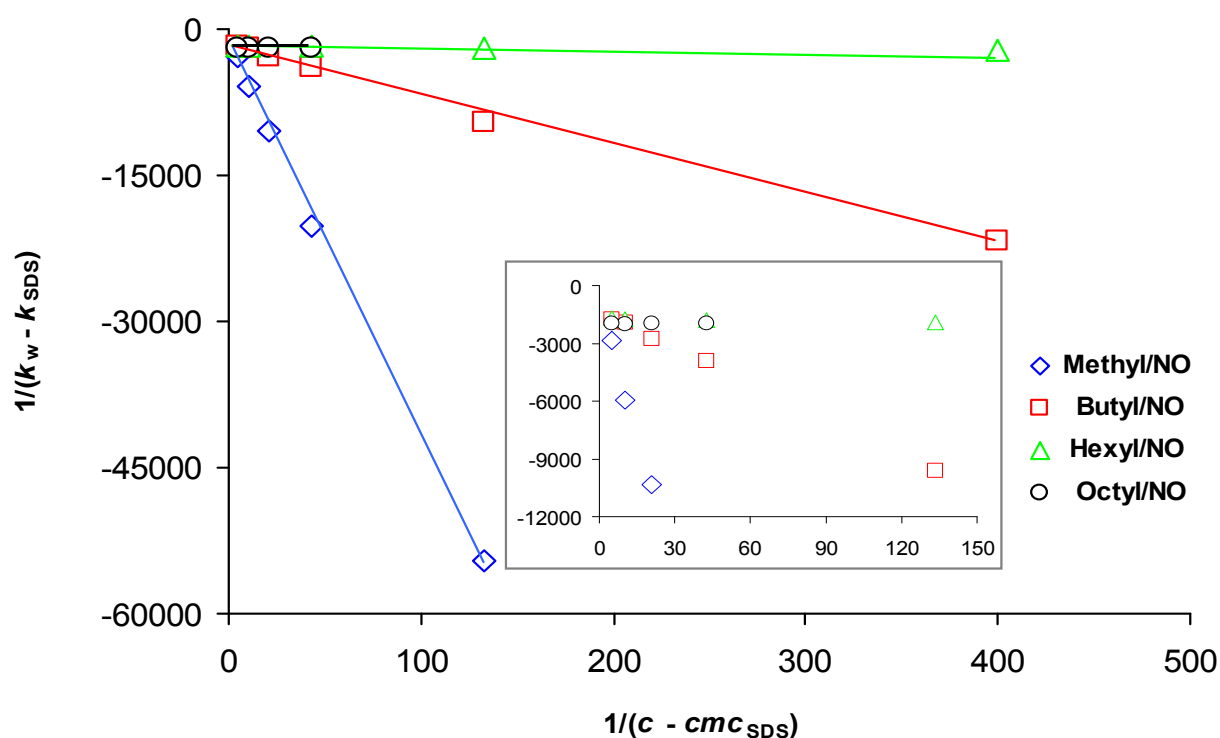


Abb. 63: Bestimmung der Geschwindigkeitskonstanten k_m und der Bindungskonstante K_{SM} für den Zerfall der NONOate **4a** – **4d** in Abhängigkeit von der SDS-Konzentration ($cmc_{SDS} = 1.9 \text{ mM}$) bei $22.0 \pm 0.1 \text{ }^\circ\text{C}$. Die Auftragung von $1/(k_w - k_{eff})$ gegen $1/([SDS] - cmc_{SDS})$ ergab für jedes NONOat eine Gerade, deren Steigung $n/(K_{SM}(k_w - k_m))$ und Achsenabschnitt $1/(k_w - k_m)$ jeweils Werte für k_m und K_{SM} liefern. Der Betrag k_w entspricht dem Zerfall von **4a** – **4d** in reiner Pufferlösung.

Bei der Auftragung von $1/(k_w - k_{\text{eff}})$ gegen $1/(c - \text{cmc})$ ergab sich für alle untersuchten NONOate ein linearer Verlauf, so dass aus den Steigungen $n/(K_{\text{SM}}(k_w - k_m))$ und den Beträgen für den Achsenabschnitt $1/(k_w - k_m)$ die Geschwindigkeitskonstanten k_m und die Bindungskonstanten K_{SM} erhalten wurden. Im Falle des Octyl-NONOats **4c** streuen die Wertepaare $1/(k_w - k_{\text{eff}})$ um einen konstanten Mittelwert. Dieser Mittelwert wurde als Achsenabschnitt $1/(k_w - k_m)$ interpretiert, so dass die Konstante k_m auch hier zugänglich war. Da die Steigung gleich Null ist, konnte die Bindungskonstante K_{SM} nicht berechnet werden. Für alle anderen Vertreter **4a**, **4b** und **4d** waren die Bindungskonstanten über die Steigungen zugänglich. Tabelle 23 stellt alle Ergebnisse übersichtlich dar. Gezeigt werden auch die Werte für k_w und k_{max} , der maximalen Geschwindigkeitskonstanten für den Zerfall in 0.2 M SDS-Lösung.

Tab. 23: Werte für die Geschwindigkeitskonstanten k_m und den Bindungskonstanten K_{SM} der NONOate **4a** – **4d** nach der Auftragung von $1/(k_w - k_{\text{eff}})$ gegen $1/([\text{SDS}] - \text{cmc}_{\text{SDS}})$. Werte für k_m und K_{SM} waren über die Steigung $n/(K_{\text{SM}}(k_w - k_m))$ und den Achsenabschnitt $1/(k_w - k_m)$ zugänglich.

	$k_m \cdot 10^{-4} [\text{s}^{-1}]$	$k_w \cdot 10^{-4} [\text{s}^{-1}]$	$k_{\text{max}} \cdot 10^{-4} [\text{s}^{-1}]$	$K_{\text{SM}} [\text{M}^{-1}]$
Methyl/NO	3.95 ± 2.60	1.29 ± 0.02	4.78 ± 0.04	537 ± 455
Butyl/NO	5.41 ± 1.84	0.23 ± 0.01	6.00 ± 0.06	3796 ± 1483
Hexyl/NO	5.48 ± 0.07	0.20 ± 0.01	6.04 ± 0.05	$(1.48 \pm 0.02) \cdot 10^5$
Octyl/NO	5.97 ± 0.06	0.93 ± 0.01	6.06 ± 0.08	—

k_{max} : Konstante für den Zerfall in Phosphatpufferlösung (pH 7.4) in Gegenwart von 200 mM SDS.

Mit zunehmender Kettenlänge streben die Werte für k_m einem konstanten Betrag entgegen, so dass eine deutliche Tendenz in der Reihe Methyl < Butyl < Hexyl < Octyl vorliegt. Die Werte für k_m steigen in derselben Reihenfolge an, ohne jedoch die Beträge für k_{max} zu übertreffen. Die Geschwindigkeitskonstanten k_m zeigen, dass der NONOat-Zerfall vor allem bei den hydrophob modifizierten Vertretern **4a** – **4c** vorwiegend über Weg **B** erfolgt. Im Falle des Octyl-NONOats **4c** sind beide Werte (k_m und k_{max}) sogar gleich groß. Hier erfolgt der Zerfall ausschließlich nach Wechselwirkung mit den Mizellen, so dass der Zerfall aus der *bulk*-Phase heraus keine Rolle mehr spielt. Bei Betrachtung der Bindungskonstanten K_{SM} wird der Einfluss der Mizellen noch deutlicher. Erwartungsgemäß steigen die Werte mit Zunahme der Kettenlängen deutlich an.

Folglich wurde für das Hexyl-NONOat **4b** der höchste Betrag gefunden. Über die Gleichgewichts-konstante K_{SM} sind auch Werte für die freie Enthalpie ΔG° zugänglich, wobei die freie Enthalpie und K_{SM} über die Beziehung $\Delta G^\circ = RT \ln K_{SM}$ miteinander verknüpft sind.

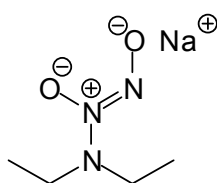
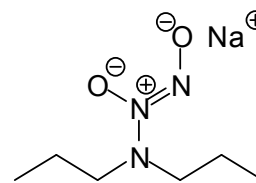
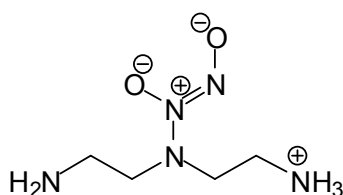
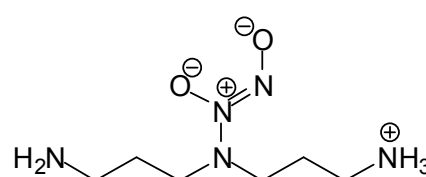
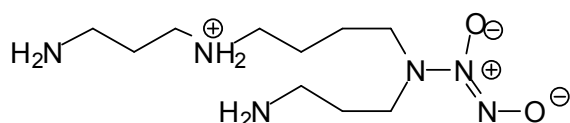
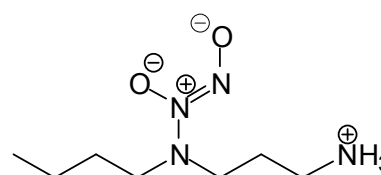
	$K_{SM} [M^{-1}]$	$\Delta G^\circ [kJ/mol]$
Methyl/NO 4d	537 \pm 455	- 15.4
Butyl/NO 4a	3796 \pm 1483	- 20.2
Hexyl/NO 4b	(1.48 \pm 0.02) 10^5	- 29.2

$R = 8.3145 \text{ J/Mol K}$, $T = 295.15 \text{ K}$

Alle Werte für ΔG° sind negativ. Vom Betrag her folgen sie dem gleichen Trend und zeigen einen Anstieg in der Reihe Methyl < Butyl < Hexyl. Bei Betrachtung von ΔG° wird vor allem der Einfluss der hydrophoben Wechselwirkungen deutlich, denn den ΔG° -Werten zufolge ist der Einbau in die Mizellen um so mehr begünstigt, je lipophiler die NONOate sind. Das wird durch den oben gezeigten Trend bestätigt.

6.5.5 Literaturbekannte Untersuchungen zur Wechselwirkung von NONOaten mit dem anionischen Tensid Natriumdodecylsulfat

Der Zerfall von sechs literaturbekannten NONOaten wurde von PRICE, JAPPAR, LORENZO, SAAVEDRA, HRABIE und DAVIES zwei Jahre zuvor ebenfalls in Gegenwart von Natriumdodecylsulfat-Mizellen intensiv untersucht. Gegenstand ihrer kinetischen Messungen waren die anionischen Donatoren **DEA/NO** und **DPA/NO** sowie die zwitterionischen Verbindungen **DETA/NO**, **DPTA/NO**, **PAPA/NO** und **SPER/NO**.^[100]

**DEA/NO****DPA/NO****DETA/NO****DPTA/NO****SPER/NO****PAPA/NO**

Für verschiedene Konzentrationen an Natriumdodecylsulfat (0 – 250 mM) wurden die Geschwindigkeitskonstanten k für den Zerfall unter physiologischen Bedingungen bestimmt. Als Pufferlösung diente ein Gemisch aus Natriumdihydrogenphosphat (NaH_2PO_4) und Dinatriumhydrogenphosphat (Na_2HPO_4). Alle Messungen erfolgten unter physiologischen Bedingungen bei einem pH-Wert von 7.4 und einer Temperatur von 37 °C. Nur im Falle des **DETA/NO** wurde wegen der sehr langen Halbwertszeit (1200 min) ein niedrigerer pH-Wert von 7.0 gewählt. Unter den gegebenen

Bedingungen gingen die Autoren von einer Aggregationszahl $n = 100$. aus. Die Konzentration an NONOat betrug jeweils 0.1 mM. Bis auf das **DEA/NO** zeigten alle NONOate eine von der SDS-Konzentration abhängige Zerfallsgeschwindigkeit. Die untere Tabelle gibt eine Übersicht und stellt die Ergebnisse für **DPA/NO**, **DETA/NO**, **DPTA/NO**, **PAPA/NO** und **SPER/NO** dem Ergebnis für das Butyl-NONOat **4a** gegenüber (Messung bei 37 °C).

Tab. 24: Geschwindigkeitskonstanten k für den Zerfall von **DPA/NO**, **DETA/NO**, **DPTA/NO**, **PAPA/NO**, **SPER/NO**^[100] und Butyl-NONOat **4a** in Phosphatpufferlösung (pH 7.4) in Gegenwart verschiedener SDS-Konzentrationen bei 37 °C.

	SDS [mM]	k [10^{-4} s^{-1}]	Faktor
DPA/NO	0	44.5	
	98	81.9	2
	200	122.0	3
DPTA/NO	0	1.39	
	100	5.12	4
	200	6.51	5
PAPA/NO	0	7.02	
	100	19.8	3
	200	30.4	4
SPER/NO	0	4.00	
	100	18.2	5
	200	20.9	5
DETA/NO	0	0.203	
	102	0.955	6
	250	1.290	6
Butyl/NO 4a	0	1.12 ± 0.07	
	101	24.41 ± 0.06	22

Ebenso wie bei den Donatoren **4a** - **4d** wurde auch für die oben gezeigten Vertreter **DETA/NO**, **DPTA/NO**, **PAPA/NO** und **SPER/NO** ein Anstieg von k beobachtet. Innerhalb der untersuchten Konzentrationsbereiche (0 – 250 mM SDS) konnte für **PAPA/NO** eine vierfach höhere, für **DPTA/NO** und **SPER/NO** jeweils eine fünffach höhere sowie für das **DETA/NO** eine sechsfach höhere Geschwindigkeitskonstante k ermittelt werden. Im Falle des anionischen Vertreters **DPA/NO** wurde ein nur dreifach höherer Wert bestimmt. Bei allen hydrophilen Verbindungen wurden ähnlich große Faktoren von 4 bis 6 gefunden, während für das Butyl-NONOat **4a** ein deutlich höherer Wert charakteristisch ist. So konnte unter vergleichbaren Bedingungen (pH 7.4, 37 °C) die Zerfallsgeschwindigkeit für das Butyl-NONOat **4a** auf das zweiundzwanzigfache gesteigert werden. Für alle NONOate (**DPA/NO**, **DETA/NO**, **DPTA/NO**, **PAPA/NO** und **SPER/NO**) zeigt die Geschwindigkeitskonstante k einen allmählichen Anstieg mit der SDS-Konzentration, ohne einen konstanten Endwert zu erreichen. Dies kann darauf zurückgeführt werden, dass aufgrund attraktiver Wechselwirkungen (Coulomb-Wechselwirkungen) zwischen den *N*-Diazeniumdiolaten und den SDS-Molekülen es zu einer Annäherung an die Oberfläche der Mizellen kommt, so dass die NONOate zumindest partiell einer lokalen pH-Wert-Erniedrigung ausgesetzt sind und ein beschleunigter Zerfall die Folge ist.

Bei der Interpretation ihrer Daten gingen die Autoren ebenfalls von einer mizellaren Katalyse aus, nach der der Zerfall der NONOate in Gegenwart von SDS über zwei parallel verlaufende Wege erfolgt. In der *bulk*-Phase gelöste Moleküle werden von SDS-Mizellen nicht beeinflusst, so dass der NONOat-Zerfall dem in reiner Pufferlösung entspricht (Weg **A**, k_w). Da es in Gegenwart von SDS-Mizellen auch zu Coulomb-Wechselwirkungen mit den NONOat-Molekülen kommt, kann der Zerfall simultan über Weg **B** erfolgen (k_m). Dem Zerfall über Weg **B** geht dann ein Gleichgewicht voraus, das die nichtkovalent bindende Wechselwirkung zwischen den NONOat-Molekülen und den SDS-Mizellen beschreibt und durch die Gleichgewichtskonstante K_{SM} beschrieben werden kann. Beide Zerfallswege werden simultan beschriftet. Die Geschwindigkeitskonstanten k , die in Gegenwart von SDS gemessen wurden, setzten sich ebenfalls aus den jeweiligen Teilbeträgen (Weg **A** und **B**) zusammen.

$$k_{\text{eff.}} = \frac{k_w + k_m [N_n] K_{SM}}{1 + K_{SM} [N_n]} \quad (24)$$

Für jedes untersuchte NONOat wurden die Bindungskonstanten K_{SM} ermittelt. Tab. 25 zeigt eine Zusammenstellung der K_{SM} -Werte für **DPA/NO**, **DETA/NO**, **DPTA/NO**, **PAPA/NO** und **SPER/NO**.

Tab. 25: Gleichgewichtskonstanten K_{SM} für die Bildung verschiedener NONOate an SDS in Phosphatpufferlösung unter physiologischen Bedingungen (pH 7.4, 37 °C).^[101]

	SPER/NO	DETA/NO	DPTA/NO	PAPA/NO	DPA/NO
K_{SM} [M⁻¹]	88.5	15.4 (48.2)*	14.8	12.1	4.8

* Essigsäure/Natriumacetat-Puffer pH 5.5

Am Beispiel von **DPTA/NO** konnten die Autoren nachweisen, dass die pK -Werte einen signifikanten Anstieg in Gegenwart von SDS erfahren. UV-spektroskopische Untersuchungen lieferten in Abwesenheit von SDS einen pK -Wert von 3.49, während in Gegenwart von 0.1 M SDS ein deutlich höherer Wert von 5.35 erhalten wurde. Daher gingen die Autoren davon aus, dass die Aminfunktionen in den NONOaten unter physiologischen Bedingungen (pH = 7.4) protoniert vorliegen. So wurde für die NONOate **DPA/NO**, **DETA/NO**, **DPTA/NO**, **PAPA/NO** und **SPER/NO** ein direkter Zusammenhang zwischen der Anzahl an positiven Ladungen im NONOat und der Bindungskonstante K_{SM} gefunden. Mit insgesamt drei zusätzlichen Aminfunktionen besaß das **SPER/NO** den höchsten Betrag für K_{SM} , wohingegen das schwach hydrophobe **DPA/NO**, das über keine weiteren Aminogruppen verfügt, den kleinsten Wert zeigte.^[100]

6.5.6 Diskussion

Die Geschwindigkeitskonstanten k , die für den SDS-vermittelten (katalysierten) Zerfall gefunden wurden, setzen sich aus drei verschiedenen Einzelbeträgen zusammen:

- 1 Geschwindigkeit für den Zerfall in reiner Pufferlösung
- 2 Geschwindigkeit für den Zerfall bei Annäherung an die Mizell-Oberflächen (Coulomb-Wechselwirkungen)
- 3 Geschwindigkeit für den Zerfall nach Einbau in die SDS-Mizellen (hydrophober Effekt)

Für sehr kleine Konzentrationen an SDS ($c < cmc_{\text{SDS}}$) sollte die Zerfallsgeschwindigkeit hauptsächlich der in reiner Pufferlösung entsprechen (1), während Coulomb-Wechselwirkungen bei ansteigender SDS-Konzentration ($c > cmc_{\text{SDS}}$) zunehmend an Bedeutung gewinnen (2). Das *Eintauchen* in die hydrophoben Bereiche der Mizellen (3) spielt für NONOate wie **DETA/NO**, **DPTA/NO**, **PAPA/NO** und **SPER/NO** anscheinend keine Rolle, so dass der beschleunigte Zerfall überwiegend auf Coulomb-Wechselwirkungen (2) zurückgeführt werden kann. Gleiches gilt auch für den kurzkettigen Vertreter **4d**. Anders sieht das im Falle der lipophilen NONOate **4b** und **4c** aus. Hier bewirken hydrophobe Wechselwirkungen schon bei niedriger SDS-Konzentration einen vollständigen Einbau in die Mizellen (3), so dass der maximale Betrag von k bereits im Bereich der kritischen Mizellbildungskonzentration beobachtet wird. Im Falle der weniger hydrophoben Verbindung **4a** wird dieser Zustand erst bei hoher SDS-Konzentration ($c \approx 0.2 \text{ M}$) erreicht. Der gemessene Wert für k wird dann maximal und ist vergleichbar mit denen der NONOate **4b** und **4c**, was einen nahezu quantitativen Einbau entspricht. Der hydrophobe Charakter geht im Falle des Methyl-Derivates **4d** weitgehend verloren, so dass die Zerfallskonstante k über den gesamten Konzentrationsbereich vorwiegend von den ersten beiden Beträgen (1 und 2) bestimmt wird. Der maximale Betrag von k wird auch bei hoher SDS-Konzentration nicht erreicht. Hydrophobe Wechselwirkungen konnten also gezielt genutzt werden, um die Geschwindigkeit der Freisetzung von Stickstoffmonoxid aus NONOaten zu steuern.

Die hydrophilen NONOate **DPA/NO**, **DETA/NO**, **DPTA/NO**, **PAPA/NO** und **SPER/NO** zeigen keine sehr großen Unterschiede in den Bindungskonstanten. Alle Beträge, die

für K_{SM} gefunden wurden, liegen unterhalb von 100 M^{-1} , während die hydrophob modifizierten Vertreter **4a** – **4c** deutlich höhere Werte besitzen. Das zeigt, dass die NONOate **4a** – **4c** aufgrund von hydrophoben Wechselwirkungen viel stärker an die Mizellen gebunden werden. Coulomb-Kräfte, wie sie bei den hydrophilen Donatoren von Bedeutung sind, spielen dagegen eine viel geringe Rolle. Das Methyl-NONOat **4d** ist mit den literaturbekannten Verbindungen von PRICE, JAPPAR, LORENZO, SAAVEDRA, HRABIE und DAVIES vergleichbar und besitzt im Gegensatz zu **4a** – **4c** den kleinsten Betrag für K_{SM} .

6.5.7 NONOate als Sonden zur Bestimmung der pH-Wert-Erniedrigung im Bereich der Sternregion von Natriumdodecylsulfat-(SDS)-Mizellen

Die linearisierte Abhängigkeit der Geschwindigkeitskonstanten k des Zerfalls von **4a** vom pH-Wert der Lösung (vgl. Abb. 64), ermöglicht einen experimentellen Zugang zum pH-Wert auf der Mizelloberfläche. Dazu wurden die Geschwindigkeitskonstanten k , die in Abhängigkeit von der SDS-Konzentration erhalten wurden, in den Graphen eingetragen ($\lg k$). In Abb. 64 werden diese $\lg k$ -Werte durch die rechteckigen Punkte wiedergegeben. Man erhält schließlich die pH-Werte, indem man von diesen Punkten das Lot auf die Abszisse fällt. Über die Umkehrfunktion der Geradengleichung sind damit die pH-Werte direkt zugänglich. Abb 64 zeigt deutlich, dass die pH-Werte mit zunehmender SDS-Konzentration (0 – 200 mM) nicht beliebig kleiner werden, sondern einem Grenzwert entgegenstreben. Ausgehend von einer reinen Pufferlösung (pH 7.36) findet man, dass bei einer Verdoppelung der SDS-Konzentration von 100 zu 200 mM, keine wesentliche pH-Wert-Erniedrigung mehr beobachtet wird, so dass der Grenz-pH-Wert in der Doppelschicht nahe bei pH = 5.86 liegen sollte. Die Auftragung liefert somit quantitative Aussagen über die lokale pH-Wert-Erniedrigung auf den Mizell-Oberflächen (Kugel- und Stäbchenmizellen im untersuchten Konzentrationsbereich). Die untere Tabelle faßt die Geschwindigkeitskonstanten k , $\lg k$ -Werte und die Werte für die pH-Wert-Erniedrigung zusammen.

Tab. 26: Geschwindigkeitskonstanten k , $\lg k$ -Werte und scheinbare pH-Werte für den Zerfall von **4a** in Phosphatpufferlösung pH 7.4 in Abhängigkeit von der SDS-Konzentration bei 22.0 ± 0.1 °C. Es liegt ein linearer Zusammenhang vor, wobei $\lg k = 0.937 \text{ pH} + 2.267$ und $r^2 = 0.9994$ gilt.

[SDS] mM	$10^{-4} k [\text{s}^{-1}]$	$\lg k_{\text{SDS}}$	pH-Wert (MIZELLOBERFLÄCHE)
0	0.23 ± 0.002	$-(4.640 \pm 0.004)$	7.36 ± 0.00
5	0.68 ± 0.01	$-(4.166 \pm 0.008)$	6.86 ± 0.01
10	1.26 ± 0.02	$-(3.899 \pm 0.007)$	6.58 ± 0.02
26	2.78 ± 0.04	$-(3.556 \pm 0.006)$	6.21 ± 0.04
51	3.83 ± 0.08	$-(3.417 \pm 0.008)$	6.06 ± 0.07
101	5.41 ± 0.03	$-(3.267 \pm 0.002)$	5.90 ± 0.02
200	6.00 ± 0.06	$-(3.222 \pm 0.003)$	5.86 ± 0.03

Da alle Messungen in Phosphatpufferlösung (0.1 M) erfolgten, kann davon ausgegangen werden, dass der Übergang von der Kugel- zur Stäbchenmizelle bereits bei kleiner SDS-Konzentration stattgefunden hat. So erfolgt dieser Übergang in reinem Wasser bei einer SDS-Konzentration von 65 mM.^[89] In Pufferlösung sollte dieser Wert ebenso wie die erste kritische Mizellbildungskonzentration cmc_{SDS} deutlich niedriger liegen. Welche Aggregationsformen tatsächlich vorliegen, konnte im Rahmen dieser Arbeit noch nicht geklärt werden. Um die einzelnen Phasenübergänge zu bestimmen, sind zusätzliche rheologische Untersuchungen notwendig. Hier bieten sich vor allem Leitfähigkeitsmessungen und Licht-Streuverfahren an.^[87,89,93]

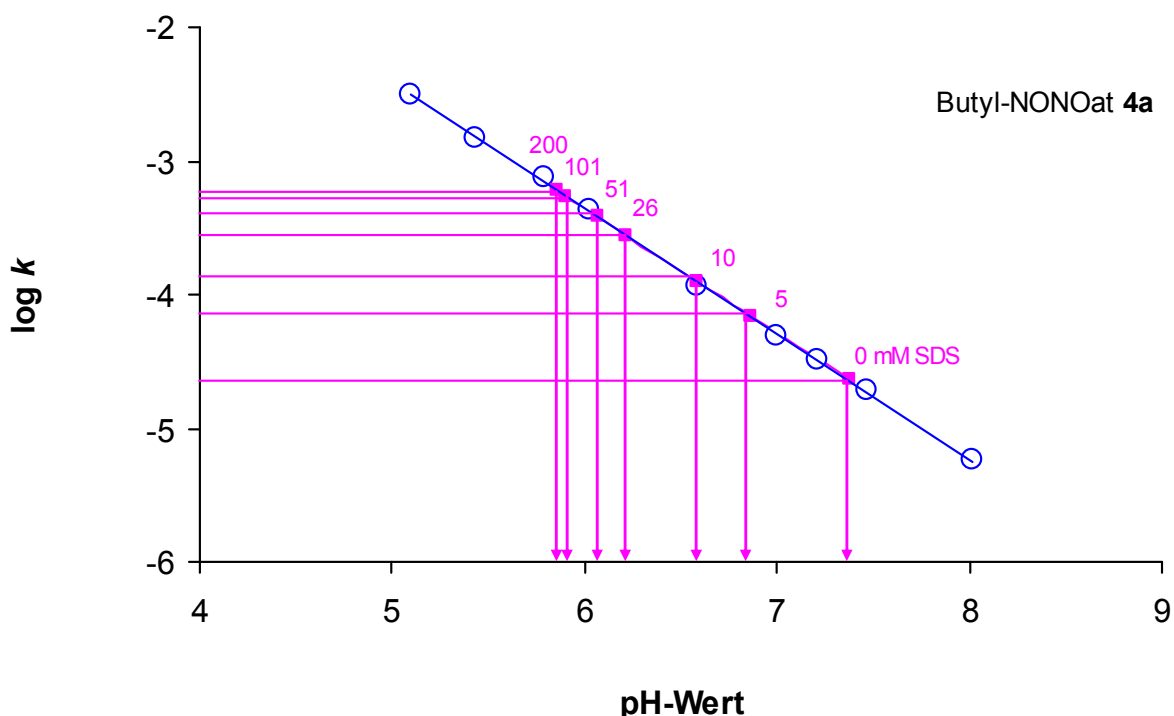
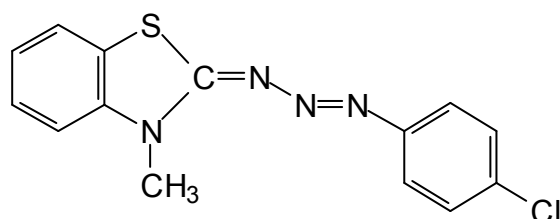


Abb. 64: Der Logarithmus der gemessenen Geschwindigkeitskonstanten $\lg k$ des Zerfalls von **4a** in Abhängigkeit vom scheinbaren pH-Wert. Es liegt ein linearer Zusammenhang vor, wobei $\lg k = 0.9369 \cdot \text{pH} + 2.2672$ gilt. Die Umkehrfunktion liefert für jede SDS-Konzentration einen gegenüber 7.4 erniedrigten pH-Wert. Dieser wird mit zunehmender Konzentration an SDS in der Lösung kleiner und läuft schließlich einem Grenzwert entgegen, der bei $\text{pH} \approx 5.9$ liegt (Kugel- und Stäbchenmizellen im untersuchten Konzentrationsbereich).

Zur Bestimmung des pH-Wertes in der Stern-Region werden seit langem optische (absorptionsspektroskopische) pH-Indikatoren verwendet. Als Sonden haben sich dabei besonders mit langen Kohlenwasserstoffresten substituierte Hydroxycumarin- und

Aminocumarin-Derivate bewährt. FANGHÄNEL und ORTMANN bestimmten ebenfalls gegen Ende der 1980er Jahre für verschiedene anionische Tenside und deren Mizellen das Oberflächenpotential und den relativen pH-Wert in der Sternregion. Als Sonde verwendeten sie ein Triazabutadien-Derivat, das 1-(4'-Chlophenyl)-3-(3-methylbenz-thiazolinylden-(2))-triazen (**p-Cl-T**), da sich die VIS-Spektren der unprotonierten und der protonierten Form deutlich unterscheiden.^[101]

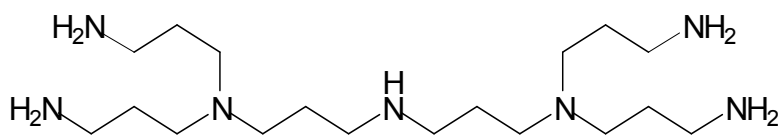
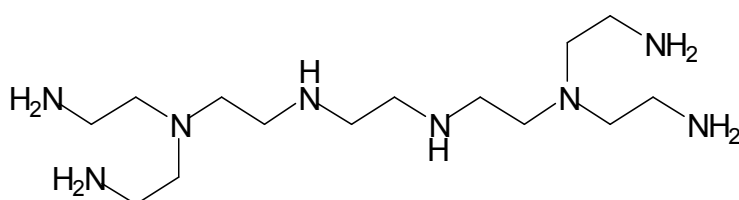


p-Cl-T

Über eine Säure-Base Titration der mizellaren Lösungen wurden zunächst die pK_S -Werte von **p-Cl-T** ermittelt. Im Anschluß daran berechneten die Autoren daraus das Verhältnis der Protonenkonzentration in der Sternregion zur H^+ -Konzentration in Wasser. Durch Zugabe von Fremdelektrolyten (NaCl) wird dieser Wert erniedrigt, das heißt, H^+ wird zunehmend durch Na^+ verdrängt. Während in reinem Wasser ein Verhältnis von 178 berechnet worden war, wurde in Gegenwart von 0.3 M NaCl ein viel kleinerer Grenzwert von 8 ermittelt. Im ersten Falle entspricht das einem pH-Wert von 4.8. wohingegen im zweiten Falle derselbe Wert bei 6.1 liegt. Dieser Wert stimmt im Rahmen der Messfehler mit dem aus dem Zerfall des Butyl-NONOats **4a** ermittelten pH-Wert von 5.9 überein. Das Ergebnis folgt also den Erwartungen und steht in Einklang mit den Literaturwerten. Dieses Ergebnis zeigt auch, dass das Butyl-NONOat **4a** als Sonde zur Ermittlung der pH-Wert-Erniedrigung geeignet ist.

7 Zusammenfassung der Ergebnisse

Ein Ziel dieser Arbeit war die Synthese von verzweigten aliphatischen Polyaminen als Vorstufen für hydrophile *N*-Diazeniumdiolate. Während die Darstellung von *N,N*-Bis-(2-amino-ethyl)-*N'*-(2-{2-[bis-(2-amino-ethyl)-amino]-ethylamino}-ethyl)-ethan-1,2-diamin (**3**) nach einer einstufigen Alkylierungsreaktion gelang, konnte über bewährte Methoden wie Michael-Addition und Reduktion ausgehend vom Initiator 3,3'-Iminodipropionitril (**9**) das verzweigte *N,N*-Bis-(3-amino-propyl)-*N'*-(3-[bis-(3-amino-propyl)-amino]-propyl)-propan-1,3-diamin (**2**) hergestellt werden.

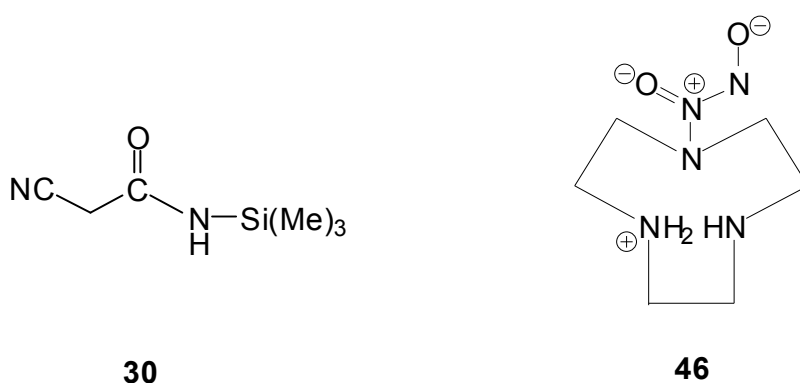
**2****3**

Versuche zur Synthese von *N'*-[2-(5-Amino-2-aminomethyl-pentylamino)-ethyl]-2-aminomethyl-pentan-1,5-diamin (**1**) verliefen dagegen erfolglos. Drei verschiedene Methoden wurden ausgewählt, um die Tetranitril-Verbindung **8** in das Polyamin **1** zu überführen. Während nach den Umsetzungen mit **DIBAH** und **LiAlH₄** das gewünschte Amin **1** nicht identifiziert werden konnte, zeigten die katalytischen Hydrierungen mit **Rh/Al₂O₃** einen unvollständigen Verlauf.

Verzweigte aliphatische Amine vom Typ **25** scheinen ebenso wie die Polyamine **2** und **3** attraktive Vorstufen für hydrophile NONOate zu sein. Der Aufbau des verzweigten Polyamins **25b** soll der in Kapitel 4 diskutierten Synthesestrategie zufolge über die Imidverbindung **31** erfolgen (vgl. Abb. 33). Ausgangsverbindungen zur Darstellung von **31** sind das Säurechlorid **29** und das Silylamid **30**, die beide erfolgreich synthetisiert werden konnten. Die Darstellung von *N*-Trimethylsilyl-2-cyanacetamid (**30**) wurde

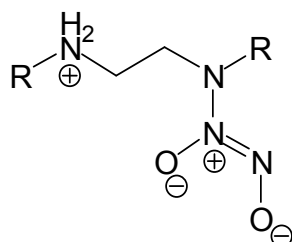
erstmals durchgeführt und gelang durch Umsetzung von **28** mit Trimethylchlorsilan in Acetonitril als Lösungsmittel.

Makrozyklische Verbindungen wie das Triazacyclononan (**26**) kommen ebenfalls als NONOat-Vorstufen in Betracht. So führte die Umsetzung von **26** mit Stickstoffmonoxid zum intramolekular stabilisierten Salz **46**. Für den Zerfall unter physiologischen Bedingungen ergaben UV-spektroskopische Untersuchungen eine Geschwindigkeitskonstante von $k = (4.58 \pm 0.07) \cdot 10^{-4} \text{ s}^{-1}$ und eine Halbwertszeit von $t_{1/2} = 25.4 \pm 0.4 \text{ min}$.



Anhand der lipophilen NONOate **4a** – **4c** konnte gezeigt werden, dass SDS in Abhängigkeit von der Konzentration den Zerfall in Phosphatpufferlösung (pH 7.4, 22 °C) beschleunigt. SDS-Mizellen ermöglichen also die selektive Freisetzung von Stickstoffmonoxid. Die Geschwindigkeitskonstanten k , die für den SDS-vermittelten (katalysierten) Zerfall gefunden wurden, setzen sich aus drei verschiedenen Beträgen zusammen, einerseits aus der Geschwindigkeit für den Zerfall in reiner Pufferlösung, andererseits aus der Geschwindigkeit für den Zerfall bei Annäherung an die Mizelloberflächen (Coulomb-Wechselwirkungen) sowie aus der Geschwindigkeit für den Zerfall nach Einbau in die SDS-Mizellen (hydrophober Effekt). Im Falle der lipophilen NONOate **4b** und **4c** bewirken hydrophobe Wechselwirkungen schon bei niedriger SDS-Konzentration einen vollständigen Einbau in die Mizellen, so dass der maximale Betrag von k bereits im Bereich der kritischen Mizellbildungskonzentration beobachtet wird. Im Falle der weniger hydrophoben Verbindung **4a** wird dieser Zustand erst bei hoher SDS-Konzentration ($c \approx 0.2 \text{ M}$) erreicht. Der gemessene Wert für k wird dann maximal und ist vergleichbar mit denen der NONOate **4b** und **4c**, was einen nahezu quantitativen Einbau entspricht. Im Falle des Methyl-NONOats **4d** spielen hydrophobe Wechselwirkungen kaum eine Rolle, weshalb der maximale Betrag von k auch bei

hoher SDS-Konzentration nicht erreicht wird. Hydrophobe Wechselwirkungen konnten also gezielt genutzt werden, um die Geschwindigkeit der Freisetzung von Stickstoffmonoxid aus den NONOaten **4a** – **4c** zu steuern.



4a R = (CH₂)₃CH₃

4b R = (CH₂)₅CH₃

4c R = (CH₂)₇CH₃

4d R = CH₃

4

Für die Methyl- und Butyl-NONOate **4d** und **4a** wurde der Zerfall auch in Abhängigkeit vom pH-Wert verfolgt. Der Verlauf der Geschwindigkeitskonstanten k zeigte dabei deutlich, dass der Zerfall der NONOate umso rascher erfolgt, je niedriger der pH-Wert der Lösung ist. Die linearisierte Abhängigkeit der Geschwindigkeitskonstanten k des Zerfalls von **4a** vom pH-Wert der Lösung (vgl. Abb. 64) ermöglichte einen experimentellen Zugang zum pH-Wert auf der Mizelloberfläche (Kugel- und Stäbchenmizellen im untersuchten Konzentrationsbereich). So ist das Butyl-NONOat **4a** als Sonde zur Ermittlung der pH-Wert-Erniedrigung geeignet und lieferte einen gegenüber 7.4 erniedrigten pH-Wert (Grenz-pH-Wert) von 5.9.

8 Experimenteller Teil

8.1 Allgemeine Arbeitstechnik

8.1.1 Analytik

Die Aufnahme der NMR-Spektren erfolgte mit dem Spektrometer XL-200 der Firma Varian bei einer Meßfrequenz von 200 MHz (^1H -NMR) bzw. 50 MHz (^{13}C -NMR) sowie mit dem Spektrometer Bruker Avance 500 (DRX) mit einer Meßfrequenz von 500 MHz (^1H -NMR) bzw. 125.7 MHz (^{13}C -NMR) und 50.6 MHz (^{15}N -NMR). Die chemische Verschiebung wird in ppm-Werten in der δ -Skala angegeben. Wenn nicht anders erwähnt, beziehen sich die chemischen Verschiebungen auf TMS als Standard. Die Wiedergabe der Signalmultiplizitäten erfolgt durch die Abkürzungen s (Singulett), d (Dublett), t (Triplett), q (Quartett) und m (Multiplett).

Die Infrarotspektren wurden mit dem FT-IR-Spektrometer FTS 135 der Firma Bio-Rad sowie mit dem Modell 1600 der Firma Perkin Elmer aufgenommen. Die Aufnahme der Spektren erfolgte als Film oder als Kaliumbromid-Gemisch. Es sind die Wellenzahlen ν [cm^{-1}] der Schwingungen angegeben, die die Verbindungen charakterisieren. Die Intensitäten sind durch s (stark), m (mittel) und w (wenig intensiv) gekennzeichnet. Die Schwingungsarten sind mit ν (Streckschwingung), δ (Deformationsschwingung), i.p. (in plane) bzw. o.o.p. (out of plane) aufgeführt.

Für die UV-spektroskopischen Untersuchungen standen ebenso zwei Geräte zur Verfügung: einmal das Gerät FL 3095-500 der Firma J&M Analytische Mess- und Regeltechnik GmbH sowie das Gerät Cary 300, ausgerüstet mit einem thermostatisierten Küvettenwechsler mit einer Kapazität von 14 Quarzglas-Küvetten.

Die Aufnahme der Fluoreszenzspektren erfolgte mit dem Spektralfluorometer JY 3 -Ratio der Firma Jobin Yvon unter Verwendung von Quarzglas-Küvetten. Sämtliche Messdaten wurden mit Hilfe des Programms "DigiS[®]" erfasst.

Die CHN-Elementaranalysen wurden mit einem Analysator der Firma Carlo Erba (Elemental Analyzer Modell 1106) durchgeführt.

Die Bestimmung der Schmelzpunkte erfolgte mit dem Gerät 9100 der Firma Elektrothermal bzw. an einem Heiztischmikroskop von der Firma Reichert. Die Werte sind unkorrigiert angegeben worden.

Zur Aufnahme der Massenspektren standen zwei Spektrometer zur Verfügung. Das Sektorfeld-Massenspektrometer VG Pro-Spec 3000 von der Firma Fisons Instruments (Ionisation durch Elektronenstoß bei 70 eV) sowie das Flugzeitmassenspektrometer BIOTOF III mit einer Elektrospray-Ionenquelle von der Firma Bruker.

Die pH-Werte wurden mit dem Piccolo Plus ATC pH/C-Meter der Firma Hanna ermittelt.

8.1.2 Verwendete Chemikalien

Von der Firma Messer-Griesheim stammt das Stickstoffmonoxid 2.5 (Reinheit 99.5%), mit dem alle Synthesen der NONOate durchgeführt wurden. Die einfach substituierten Amine *n*-Butylamin (**48a**), *n*-Hexylamin (**48b**), *n*-Octylamin (**48c**), *N,N'*-Dimethylethyldiamin (**49d**) sowie Tris-(2-aminoethyl)amin (**13**) stammen von der Firma Fluka. Ethyldiamin, 1,2-Dichlorethan und 1,2-Dibromethan, Acrylnitril (**6**), Cyansäure (**27**), Cyanacetamid (**28**), und sowie der Initiator 3,3'-Iminodipropionitril (**9**) wurden von der Firma Acros bezogen. Ebenso von der Firma Fluka waren die Hydrierkatalysatoren **Rh/Al₂O₃** (5 %), **DIBAL** (1M in Hexan) und **LiAlH₄**. Von der Firma Riedel de Haen stammen die Puffersubstanzen Kalium- und Natriumdihydrogenphosphat sowie Dikalium- und Dinatriumhydrogenphosphat und Natriumhydroxid, wohingegen Natriumdodecylsulfat von der Firma Fluka bezogen wurde.

8.1.3 Trocknen und Reinigen der Lösungsmittel

Diethylether wurde durch mehrtägiges Stehen über Calciumchlorid zunächst vorgetrocknet, während **Tetrahydrofuran** durch Stehen über Kaliumhydroxid getrocknet werden konnte. Beide Lösungsmittel wurden im Anschluß daran mehrere Tage über Natrium unter Rückfluß zum Sieden erhitzt, bis sich aus dem zugesetzten Indikator *p*-Phenylbenzophenon das blau gefärbte Ketylradikal gebildet hatte. Danach wurde unter Schutzgasatmosphäre in ein Vorratsgefäß destilliert.

Ethanol wurde zunächst über Calciumoxid vorgetrocknet. Um 1L des vorgetrockneten Ethanols zu absolutieren, wurden unter Kühlung zunächst 7g Natrium gelöst, anschließend wurden 27g Diethylphthalat hinzugefügt und die Reaktionsmischung zwei Stunden unter Rückfluß zum Sieden erhitzt. Ethanol wurde im Anschluß daran auf 100 g Molekularsiebperlen 3 Å destilliert und unter Schutzgas aufbewahrt.

Methanol wurde ebenso wie Ethanol zunächst über Calciumoxid vorgetrocknet. 1L des vorgetrockneten Methanols wurden sodann mit 5g Magnesium sowie mit einer Spatelspitze Jod versetzt und unter Rückfluß solange zum Sieden erhitzt, bis alles Magnesium verbraucht war. Das Lösungsmittel konnte im Anschluß daran auf 100 g Molekularsiebperlen 3 Å destilliert werden.

Acetonitril wurde mit Kaliumcarbonat durch mehrtägiges Rühren bei Raumtemperatur getrocknet und auf Molekularsiebperlen 3Å destilliert und aufbewahrt.

8.1.4 Arbeiten unter Schutzgas

Einige Verbindungen, die in dieser Arbeit verwendet und synthetisiert wurden, sind (vermutlich) feuchtigkeits- bzw. sauerstoffempfindlich. Daher wurden vorsichtshalber zahlreiche Arbeiten unter Schutzgas durchgeführt. Als Inertgas stand Argon 5.0 (Reinheit 99.999%) der Firma Messer-Griesheim zur Verfügung. Die Glasgeräte wurden vor der Verwendung mit einer Ölpumpe evakuiert (ca. 0.7-1.0 hPa), mit einem Bunsenbrenner ausgeheizt und nach dem Abkühlen auf Raumtemperatur mit Schutzgas belüftet. Um sauerstofffreie Lösungsmittel zu erhalten, wurden diese eine halbe Stunde mit Argon 5.0 (Reinheit 99.999%) der Firma Messer Griesheim in speziellen mit Bodenfritten versehenen Gefäßen gespült.

8.1.5 Allgemeine Versuchsvorschrift zur Darstellung der N-Diazeniumdiolate (NONOate) im Hochdruckautoklaven

Die Darstellung der NONOate erfolgte in einem Edelstahl-Hochdruckautoklaven der Firma Hofer mit einem Volumen von 125 mL. Als Lösungsmittel haben sich Acetonitril oder THF sowie Gemische daraus bewährt. Alle Lösungsmittel müssen trocken sein. Zur Darstellung der NONOate wurden 2-5 g des entsprechenden Amins unter Schutzgas in 70-100 mL Lösungsmittel gelöst. Die Reaktionslösung wurde dann in den zuvor gereinigten Autoklaven überführt und dicht verschlossen. Der Überführung der

Reaktionslösung in den Autoklaven folgte der Anschluß an die Gasleitungen sowie die Prüfung auf Dichtheit. Um die Dichtheit der Apparatur zu überprüfen, wurde der Autoklav und die daran angeschlossenen Leitungen ca. 10 Minuten mit Stickstoff gespült. Im Anschluß daran wurde der Druck auf $1 \cdot 10^4$ Pa eingestellt. Wurde nach etwa 30 Minuten kein Druckabfall festgestellt, so konnte der Autoklav wieder entspannt werden. Undichte Stellen konnten gegebenenfalls mit Hilfe eines Lecksuchsprays ausfindig gemacht werden, und die betreffenden Verschraubungen und Ventile konnten dann nachgezogen werden. War die Dichtheit der Apparatur gegeben, konnte schließlich Stickstoffmonoxid zugeführt werden. Alle Reaktionen wurden bei $5\text{--}7 \cdot 10^5$ Pa durchgeführt. Ein zu hoher Druck an NO sollte während der Reaktion vermieden werden, da unter diesen Bedingungen NO zum Teil in N_2O und NO_2 zerfällt. Am Druckabfall konnte der Verbrauch von Stickstoffmonoxid festgestellt werden. Gegebenenfalls konnte der Druck dann wieder erhöht werden. Nach der Umsetzung wurde Stickstoffmonoxid abgelassen und der Autoklav wieder 10 Minuten mit Stickstoff gespült. Die Öffnung erfolgte im Abzug, da beim Entleeren und Überführen der Reaktionsmischung Stickstoffmonoxid freigesetzt wurde. Die NONOate fallen gewöhnlich als farblose Feststoffe aus, während die Lösung entweder farblos oder in manchen Fällen schwach gelb gefärbt war. Die in den Stickstoffkolben überführte Reaktionsmischung wurde mit einem Eisbad gekühlt, um eine mögliche Zersetzung zu verhindern. Zur Aufarbeitung wurde der Niederschlag unter Schutzgas über eine Umkehrfritte (DIII) von der Lösung abgetrennt, so dass im Anschluss daran das Rohprodukt mit Acetonitril oder Tetrahydrofuran gewaschen werden konnte. Nach dem Trocknen unter Vakuum (0.7 - 1.0 hPa) wurden die NO-Donatoren als farblose Feststoffe erhalten. NONOate zeigen unter Aufbewahrung bei Raumtemperatur deutliche Zersetzungserscheinungen, so dass sie allesamt unter Schutzgas bei -18°C gelagert werden müssen.

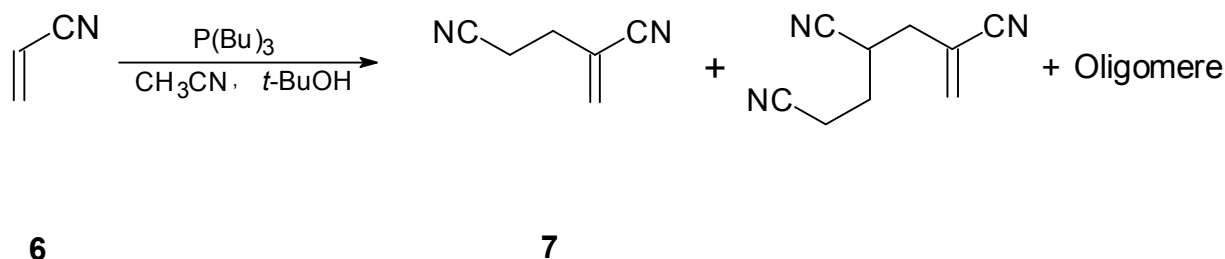
9 Darstellung und Charakterisierung der hydrophilen Amine und *N*-Diazoniumdiolate (NONOate)

9.1 Versuche zur Synthese von *N*¹-[2-(5-Amino-2-aminomethyl-pentylamino)-ethyl]-2-aminomethyl-pentan-1,5-diamin (1)

9.1.1 Darstellung von 2-Methylenglutarsäuredinitril (7)

Die Darstellung von 2-Methylenglutarsäuredinitril (7) erfolgte nach zwei Methoden.^[62,63] Die Reaktion von Acrylnitril (6) mit 1,4-Diazabicyclo[2.2.2]octan (DABCO) wurde bevorzugt, da höhere Ausbeuten erhalten wurden. Die Umsetzung von 6 mit Tributylphosphan in Acetonitril und *tert*-Butanol lieferte nur geringe Mengen an 7 (Ausbeute 5 %).

9.1.1.1 Darstellung von 2-Methylenglutarsäuredinitril (7) durch Umsetzung von Acrylnitril (6) mit Tributylphosphan in Acetonitril und *tert*-Butanol^[62]

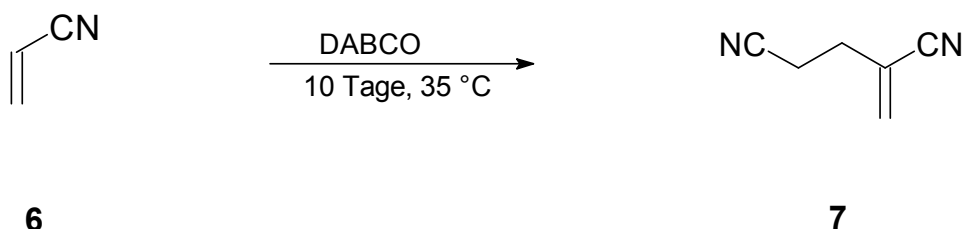


Zu einer Lösung aus 2.0 g (10 mmol) Tributylphosphan in 70 mL Acetonitril wurde unter Schutzgas und Eiskühlung eine Lösung aus 99.9 g (1.88 mol) Acrylnitril (6) in 52 mL *tert*-Butanol gegeben. Die Lösung wurde 3 Stunden bei Raumtemperatur gerührt und gegebenenfalls mit Eiswasser so gekühlt, daß die Temperatur unterhalb 45 °C lag. Die Lösung wurde danach mit 200 mL einer 2 N Salzsäure Lösung versetzt, anschließend dreimal mit 100 mL Chloroform extrahiert. Die organische Phase wurde viermal mit 50 mL Wasser gewaschen und über Natriumsulfat getrocknet. Nach dem Abziehen des Lösungsmittels erfolgte fraktionierende Destillation, wobei als Produktfraktion eine farblose Flüssigkeit erhalten wurde.

Ausbeute an 7: 7.16 g, 67.5 mmol (3 %; Lit.^[62]: 5 %)

Siedebereich: 78 - 82 °C/ 0.02 hPa (Lit.^[62]: 65 °C/ 0.1 mm)

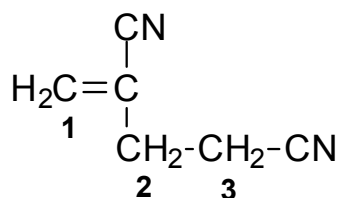
9.1.1.2 Darstellung von 2-Methylenglutarsäuredinitril (**7**) durch Umsetzung von Acrylnitril (**6**) mit 1,4-Diazabicyclo[2.2.2]octan (DABCO)^[63]



Eine Suspension aus 85.8 g (0.76 mol) 1,4-Diazabicyclo[2.2.2]octan (DABCO) in 100 mL (80.6 g, 1.52 mol) Acrylnitril (**6**) wurde 10 Tage bei 35 - 40 °C gerührt. Das Reaktionsgemisch aus orange gefärbtem ÖL und Feststoff wurde zweimal mit 150 mL heißem Chloroform versetzt und kräftig geschüttelt. Die Chloroformphasen wurden jeweils abdekantiert, und zurück blieb ein orange gefärbtes Harz. Die vereinigten Chloroformlösungen wurden im Anschluß daran zweimal mit 150 mL 2 N Salzsäure, zweimal mit 150 mL Wasser und einmal mit 100 mL gesättigter Natriumcarbonatlösung gewaschen. Nach dem Trocknen über Natriumsulfat wurde das Lösungsmittel entfernt und fraktionierend destilliert. Als Produkt wurde eine farblose Flüssigkeit erhalten.

Ausbeute an **7**: 14.6 g, 0.14 mol (18 %; Lit.^[63]: 40 %)

Siedebereich: 92 - 98 °C/ 0.05 hPa (Lit.^[63]: 96 - 98 °C/ 4mm)



¹H-NMR-spektroskopische Daten von **7** (CD₃CN, 500 MHz): δ [ppm] = 2.57-2.65 (m, 4H, H-2, H-3), 5.96 (s, 1H, H-1), 6.05 (s, 1H, H-1).

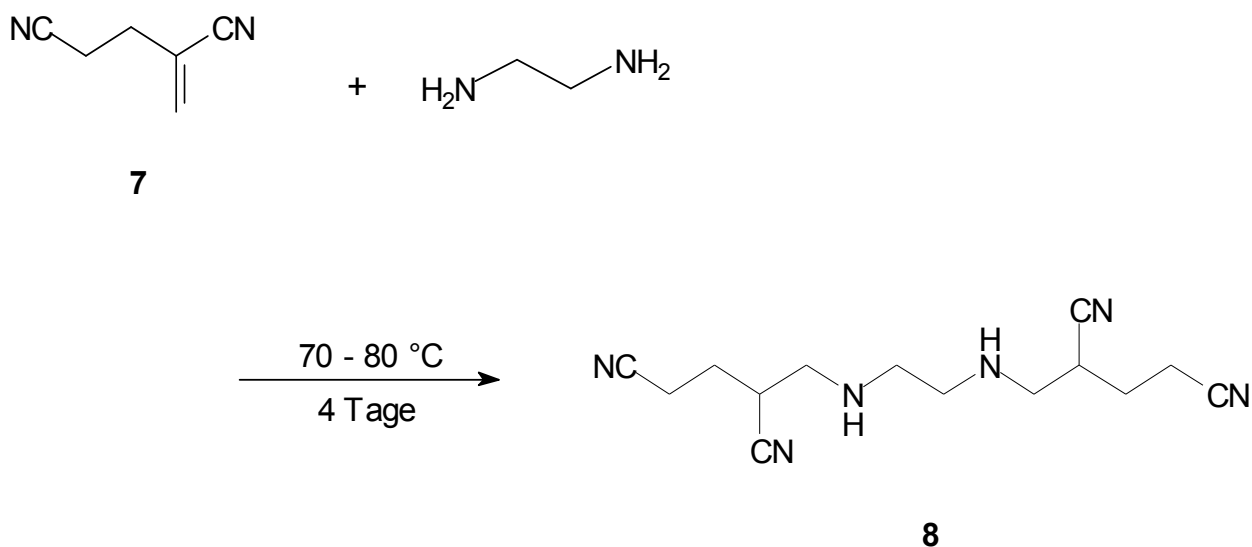
^{13}C -NMR-spektroskopische Daten von **7** (CD_3CN , 125 MHz): δ [ppm] = 16.54 (C-3), 30.54 (C-2), 118.24, 118.54, 119.42, 120.53 (CN), 134.19 (C-1).

IR (Film) [cm^{-1}] = 2977, 2936 $\nu(\text{CH})$, 2250, 2225 $\nu(\text{CN})$, 1625 $\nu(\text{C}=\text{C})$, 1426, 1409 $\delta(\text{CH})$, 950 $\delta_{\text{o.o.p.}}(\text{CH})$.

Elementaranalyse: $\text{C}_6\text{H}_6\text{N}_2$ (106.1 g/mol)

ber.	C	67.90	H	5.71	N	26.40
gef.	C	67.71	H	5.67	N	26.30

9.1.2 Umsetzung von 2-Methylenglutarsäuredinitril (**7**) mit Ethylendiamin zu 4-Cyano-5-[2-(2,4-dicyano-butylamino)-ethylamino]-pentannitril (**8**)



Bei der Darstellung des Aminonitrils **8** wurde jeweils eine Mischung aus 2-Methylenglutarsäuredinitril (**7**) und Ethylendiamin im Verhältnis 2:1 bei 70 - 80 °C insgesamt 4 Tage gerührt. Für die Darstellung wurden die Edukte in einen 10, 25, oder 50 mL Einhalskolben überführt, der mit einem Glasstopfen dicht verschlossen wurde. Die Farbe der Lösung schlägt während der Reaktion allmählich von farblos nach orange um, gleichzeitig wird das Reaktionsgemisch zunehmend zähflüssiger.

Eine Mischung aus 1.11 g (10.5 mmol) 2-Methylglutarsäuredinitril (**7**) und 0.33 g (5.5 mmol) Ethylendiamin wurde 4 Tage bei 70 - 80 °C gerührt. In regelmäßigen Zeitabständen wurde eine Probe entnommen und ^1H -NMR-spektroskopisch untersucht. Der Umsatz war nahezu quantitativ erfolgt, als die Eduktsignale bei $\delta \approx 6$ ppm nicht mehr zu erkennen waren, das Nitril **7** also verbraucht war.

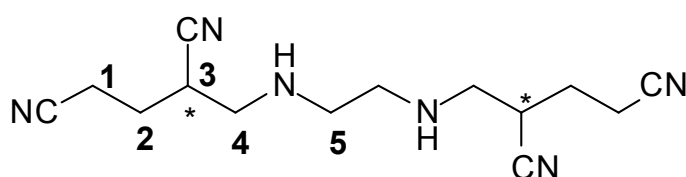
Es folgten mehrere Ansätze. Die Reaktionsmischung war während der Umsetzung dicht verschlossen, so dass das leicht flüchtige Ethylendiamin nicht entweichen konnte. Die Ausbeuten lagen allesamt zwischen 98 – 100 %. Die untere Tabelle zeigt drei typische Ansätze und die dazugehörigen Ausbeuten.

Tab: 27: Einwaagen an 2-Methylglutarsäuredinitril (**7**) und Ethylendiamin sowie Ausbeuten an Aminotetranitril **8** für drei verschiedene Ansätze.

Einwaage an 2-Methylglutarsäuredinitril (7)	Einwaage an Ethylendiamin	Ausbeute an Aminotetranitril 8
9.98 g, 94.1 mmol	2.84 g, 47.3 mmol	12.78 g, 46.9 mmol, (99 %)
10.04 g, 94.6 mmol	2.83 g, 47.1 mmol	12.83 g, 46.9 mmol, (100 %)
20.38 g, 192.1 mmol	5.78 g, 96.2 mmol	25.86 g, 94.9 mmol, (99 %)

Aufgrund der Symmetrie von **8** sollten zwei Enantiomere und eine achirale *meso*-Form existieren (* = Asymmetriezentrum). Die Nachbarschaft von chiralen oder prochiralen Zentren kann zur Nichtäquivalenz der Protonen einer CH_2 -Gruppe führen. Die beiden Wasserstoffatome sind dann diastereotop, wodurch Unterschiede in der chemischen Verschiebung erkennbar sind.^[64] Das ^1H -NMR-Spektrum von **8** folgt dem und zeigt, dass es sich bei der isolierten Verbindung um ein Diastereomeren-Gemisch handelt. Da die Signale nicht gut aufgelöst sind, erscheinen sie allesamt als Multipletts.

^1H -NMR- und ^{13}C -NMR-spektroskopische Daten von **8**:



^1H -NMR-spektroskopische Daten von **8** (CDCl_3 , 500 MHz): δ [ppm] = 1.55 (s *br*, 1H, NH), 1.97-2.02 (m, 2H, H-1), 2.50-2.61 (m, 2H, H-2), 2.71-2.75 (m, 2H, H-4), 2.87 (m, 3H, H-3, H-5).

^{13}C -NMR-spektroskopische Daten von **8** (CDCl_3 , 125 MHz): δ [ppm] = 15.26 (C-2), 25.79 (C-1), 31.97 (C-3), 48.67 (C-4), 50.03 (C-5), 118.12 (CN), 119.86 (CN).

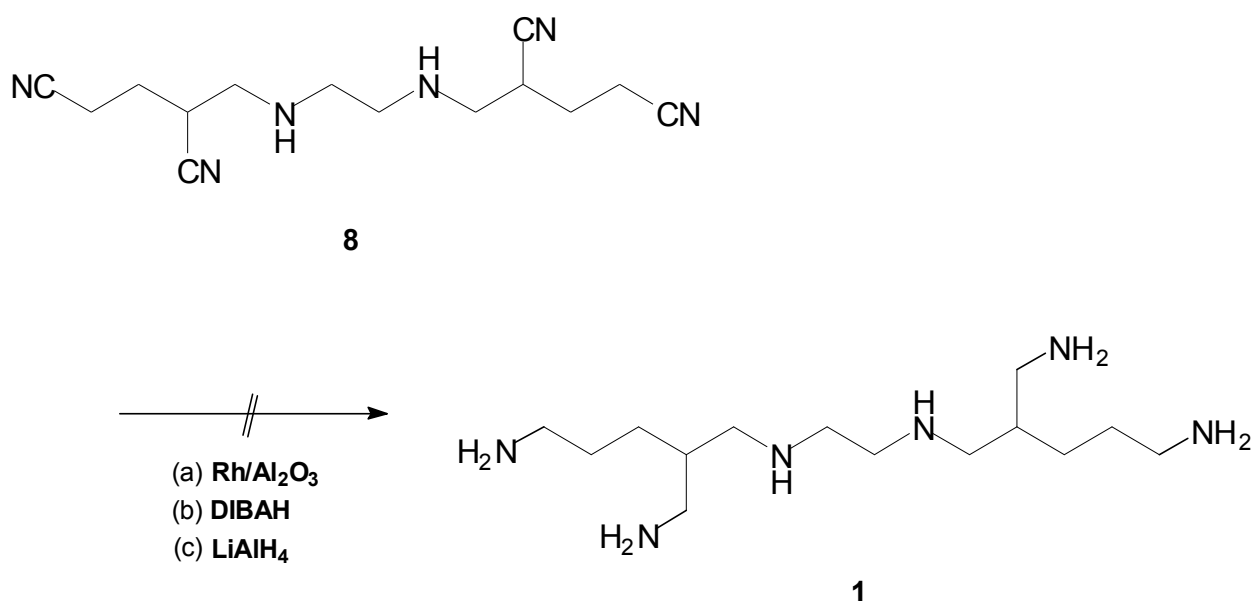
IR (Film) [cm^{-1}] = 3332 ν (NH), 2940, 2841 ν (CH), 2244 ν (CN), 1615 δ (NH), 1453 δ (CH).

MS (ESI, *positive ion mode*, Methanol): m/z = 273 [$\text{M}+\text{H}^+$], 295 [$\text{M}+\text{Na}^+$]

9.1.3 Versuche zur Hydrierung des Aminotetranitrils **8**

Insgesamt wurden drei verschiedene Methoden (**a–c**) ausgewählt, um das in der unteren Reaktionsgleichung gezeigte Aminotetranitril **8** in das Hexaamin **1** zu überführen. Versuche zur Hydrierung von **8** erfolgten mit

- **Rh**/ Al_2O_3 (5 % Belegung) in ammoniakalischer Ethanollösung (10 proz.) (**a**),
- Diisobutylaluminiumhydrid (**DIBAH**, 1M in Hexan) in trockenem THF (**b**),
- Lithiumaluminiumhydridhydrid (**LiAlH₄**) in trockenem THF (**c**).



9.1.3.1 Methode (a): Hydrierung mit Rhodium auf Aluminiumoxid Rh/Al₂O₃ (5 % Belegung) in ammoniakalischer Ethanollösung (10 proz.)

Die Hydrierungen mit Rh/Al₂O₃ (5% Belegung) erfolgten stets in ammoniakalischer Ethanollösung. Zur Herstellung einer nahezu 10 proz. Lösung wurde absolutes Ethanol mit Ammoniakgas gespült. Die allgemeine Vorgehensweise sah dabei wie folgt aus: In eine mit einer Fritte versehenen Gaswaschflasche wurden 100 mL absolutes Ethanol bei 0°C vorgelegt. Ammoniakgas wurde bei dieser Temperatur über die Fritte durch das Lösungsmittel geleitet, und über die Massenzunahme konnte der Gehalt an Ammoniak im Ethanol ermittelt werden. Es wurden mehrere Versuche zur Hydrierung durchgeführt, bei denen die Ansatzgröße und der Wasserstoffdruck variiert wurden.

1. Versuch: Eine Lösung aus 3.62 g (13.3 mmol) Aminonitril **8** in 45 mL einer 13 proz. ammoniakalischen Ethanollösung wurde mit 1.58 g des Katalysators (Rhodium auf Aluminiumoxid, 5 % Belegung) versetzt und in den Autoklaven überführt. Nach Prüfung auf Dichtheit wurde der Autoklav mit Wasserstoff ($5.5 \cdot 10^5$ Pa) beschickt. Innerhalb von 4 Tagen wurde mehrmals der Druck nachgeregelt. Den Druckverlauf über die gesamte Reaktionszeit t zeigt die untere Tabelle.

Tab. 28: Druckverlauf über die gesamte Reaktionszeit t bei dem Hydrierungsversuch von **8** zum Hexaamin **1** mittels Rhodium auf Aluminiumoxid (5 % Belegung) in 13 proz. ammoniakalischen Ethanollösung.

Reaktionszeit t [h]	Druck p [10^5 Pa]
0	5.5
16.0	4.5
19.5	4.1, auf 8.0 erhöht
23.0	7.4
40.0	6.0
46.0	5.6, auf 8.0 erhöht
64.5	5.9

Die Hydrierung wurde nach 64.5 Stunden abgebrochen. Direkt im Anschluss an die Hydrierung folgte die Aufarbeitung, indem der Katalysator abgetrennt und das

Lösungsmittel abgezogen wurde. Als Produkt konnte ein braun gefärbtes Öl isoliert werden, dass IR-spektroskopisch untersucht wurde.

Ausbeute: 3.77 g, 13.1 mmol (98 %, Ausbeute bezogen auf **1**)

Das IR-Spektrum zeigte eindeutig, dass das Aminonitril **8** nicht vollständig hydriert wurde. Die für Nitrile charakteristische Absorptionsbande bei $\nu = 2240 \text{ cm}^{-1}$ war im Spektrum noch vorhanden, so dass mit dem nur teilweise hydrierten Öl ein erneuter Hydrierungsversuch unternommen wurde. Eine Mischung aus dem Rohprodukt (3.77 g) und zusätzlichen 1.54 g (5.60 mmol) des Aminonitrils **8** in 40 mL einer 13 proz. ammoniakalischen Ethanollösung wurde zusammen mit 1.81 g des Katalysators (Rhodium auf Aluminiumoxod, 5 % Belegung) versetzt und in den Autoklaven überführt. Nach Spülen mit Stickstoff und Prüfung auf Dichtheit wurde der Autoklav mit Wasserstoff ($8.0 \cdot 10^5 \text{ Pa}$, 8.0 bar) beschickt. Nach zweieinhalb Tagen wurde die Hydrierung bei einem Druck von $4.2 \cdot 10^5 \text{ Pa}$ abgebrochen. Der Katalysator wurde abgetrennt und das Lösungsmittel entfernt. Als Rückstand verblieb auch hier ein braun gefärbtes Öl.

Ausbeute: 5.14 g, 17.8 mmol (94 %, Ausbeute bezogen auf **1**)

Das Öl wurde ebenfalls IR-spektroskopisch untersucht, wobei sich wiederum zeigte, dass das Aminonitril **8** nicht vollständig hydriert wurde. Das Spektrum zeigte deutlich die für Nitrile charakteristische Absorption bei $\nu \approx 2240 \text{ cm}^{-1}$.

2. Versuch: Eine Lösung aus 2.92 g (10.7 mmol) Aminonitril **8** in 48 mL einer 9.8 proz. ammoniakalischen Ethanollösung wurde mit 1.14 g des Katalysators (Rhodium auf Aluminiumoxod, 5 % Belegung) versetzt und in den Autoklaven überführt. Nach Prüfung auf Dichtheit wurde der Autoklav mit Wasserstoff ($10.0 \cdot 10^5 \text{ Pa}$) beschickt. Die Hydrierung wurde nach zweieinhalb Tagen ($4.6 \cdot 10^5 \text{ Pa}$) abgebrochen. Wie in den vorangegangenen Versuchen wurde der Katalysator zunächst abgetrennt und das Lösungsmittel abgezogen. Als Produkt wurde wieder ein braun gefärbtes Öl erhalten, dass ebenfalls IR-spektroskopisch untersucht wurde.

Ausbeute: 2.84 g, 9.80 mmol (92 %, Ausbeute bezogen auf **1**)

Ebenso wie in den vorausgegangenen Versuchen verlief die Hydrierung auch hier nur unvollständig, was anhand der Absorptionsbande bei $\nu \approx 2240 \text{ cm}^{-1}$ eindeutig gezeigt werden kann.

3. Versuch: Eine Lösung aus 3.68 g (13.5 mmol) Aminonitril **8** in 60 mL einer 13 proz. ammoniakalischen Ethanollösung wurde mit 1.55 g des Katalysators (Rhodium auf Aluminiumoxid, 5 % Belegung) versetzt und in den Autoklaven überführt. Nach Prüfung auf Dichtheit wurde der Autoklav mit Wasserstoff ($100 \cdot 10^5 \text{ Pa}$) beschickt. Innerhalb einer halben Stunde stieg der Druck auf $150 \cdot 10^5 \text{ Pa}$ an, so dass der Versuch aus Sicherheitsgründen abgebrochen wurde. Zur Aufbereitung wurde der Katalysator abfiltriert und das Lösungsmittel entfernt.

Ausbeute: 3.44 g, 11.9 mmol (88 %, Ausbeute bezogen auf **1**)

Auch hier zeigte die IR-spektroskopische Untersuchung eindeutig einen unvollständigen Verlauf der Hydrierung, da immer noch die für Nitrile charakteristische Absorptionsbande bei $\nu \approx 2240 \text{ cm}^{-1}$ zu erkennen war.

9.1.3.2 Methode (b): Hydrierung mit Diisobutylaluminiumhydrid (DIBAH) in trockenem Tetrahydrofuran (THF)

1. Versuch: Eine Lösung aus 75 mL (75 mmol) Diisobutylaluminiumhydrid in Hexan wurde langsam (1.5 Stunden) zu einer Lösung aus 1.91 g (7.00 mmol) des Aminonitrils **8** in 200 mL trockenem Tetrahydrofuran gegeben. Das Reaktionsgemisch wurde 21 Stunden unter Rückfluß zum Sieden erhitzt, im Anschluß daran auf Raumtemperatur abgekühlt und mit 45 mL trockenem Methanol versetzt. Der farblose Niederschlag wurde abgetrennt und zweimal mit 100 mL Methanol gewaschen. Das Lösungsmittel wurde unter reduziertem Druck abgezogen und als Rückstand verblieb ein gelbes Öl.

Ausbeute: 1.17 g, 4.10 mmol (58 %, Ausbeute bezogen auf **1**)

Das Öl wurde IR-spektroskopisch untersucht. Dabei zeigte sich, daß die Hydrierung ebenso wie bei den Versuchen mit **Rh/Al₂O₃** nicht vollständig verlaufen war. Das Spektrum zeigte deutlich eine Bande bei 2250 cm^{-1} , die der CN-Valenzschwingung

zugeordnet werden kann. Für die darauffolgenden Versuche wurde die Reaktionszeit verdoppelt.

2. Versuch: Eine Lösung aus 165 mL (165 mmol) Diisobutylaluminiumhydrid in Hexan wurde langsam (3 Stunden) zu einer Lösung aus 2.36 g (8.70 mmol) des Aminotrils **8** in 250 mL trockenem Tetrahydrofuran gegeben. Das Reaktionsgemisch wurde 43 Stunden unter Rückfluß zum Sieden erhitzt, im Anschluß daran auf Raumtemperatur abgekühlt und mit 45 mL trockenem Methanol versetzt. Ebenso wie im vorangegangenen Versuch wurde der farblose Niederschlag abgetrennt und zweimal mit 100 mL Methanol gewaschen. Dann wurde das Lösungsmittel unter Vakuum abgezogen, wobei als Rückstand ein gelb gefärbtes Öl verblieb.

Ausbeute: 2.30 g, 8.00 mmol (92 %, Ausbeute bezogen auf **1**)

Diesmal zeigte das IR-Spektrum (vgl. Abb. 13), dass die Hydrierung vollständig verlaufen war, denn die für Nitrile charakteristische Absorption war nicht mehr vorhanden. Bei der anschließenden ^1H -NMR- und ^{13}C -NMR-spektroskopischen Untersuchung in D_2O zeigten die Spektren eine sehr große Anzahl an Signalen im Bereich zwischen 0.5 – 3.5 ppm sowie im Bereich zwischen 10 – 85 ppm. Sollte sich ausschließlich das Polyamin **1** gebildet haben, so würde man im ^{13}C -NMR-Spektrum nur sieben Signale erwarten. Daher war eine Identifizierung von **1** nicht möglich. Das Rohprodukt wurde daraufhin in stark alkalischer Natriumhydroxid-Lösung (> 40 proz.) aufgenommen, wobei zunächst ein gelb gefärbtes Öl erhalten wurde. Nach dreimaligem Extrahieren mit Acetonitril und Trocknen über Magnesiumsulfat wurde das Lösungsmittel entfernt und der verbleibende Rückstand erneut ^{13}C -NMR-spektroskopisch (125 MHz) untersucht. Beide ^{13}C -NMR-Spektren in D_2O und 4.61 M NaOD in D_2O zeigten immer noch eine zu hohe Anzahl an Signalen (vgl. Abb. 14) so dass das Polyamin **1** auch hierbei nicht eindeutig identifiziert werden konnte.

9.1.3.3 Methode (c): Hydrierung mit Lithiumaluminiumhydrid (LiAlH_4) in trockenem Tetrahydrofuran (THF)

1.Versuch: In einem 1000 mL Dreihalskolben wurden 9.39 g (0.25 mol) Lithiumaluminiumhydrid in 400 mL trockenem THF vorgelegt. Zu der auf 0°C abgekühlten Suspension wurde unter Schutzgas über einen Tropftrichter 3.79 g (13.9 mmol) **8** in 80 mL trockenem THF gegeben. Die Zugabe erfolgte so, dass die Temperatur während der Zugabe stets zwischen 0 – 5 °C lag. Nach dem Zutropfen wurde die graue Reaktionsmischung über Nacht bei Raumtemperatur gerührt. Zur Aufbereitung wurde die Suspension vorsichtig in 500 mL Wasser gegeben, wobei ein farbloser Niederschlag aus Lithium- und Aluminiumhydroxid ausfiel. Der Niederschlag wurde über eine Glasfritte (III) abgetrennt und das THF im Anschluß daran unter Vakuum entfernt. Unter Eiskühlung wurde die wässrige Lösung dann mit 300 g Natriumhydroxid versetzt, und die stark alkalische Lösung daraufhin viermal mit je 100 mL Methylenchlorid extrahiert. Nach dem Trocknen über Natriumsulfat wurde das Lösungsmittel entfernt, wobei als Rohprodukt ein gelb gefärbtes Öl erhalten wurde.

Ausbeute: 2.39 g, 8.30 mmol (60 %, Ausbeute bezogen auf **1**)

Die Hydrierung mit Lithiumaluminiumhydrid war vollständig verlaufen, denn die IR-spektroskopische Untersuchung zeigte eindeutig die Abwesenheit der Nitrilfunktion (vgl. Abb.15). Um das Polyamin zu identifizieren, folgten zwei massenspektroskopische Untersuchungen. Sowohl die FAB-Aufnahme (Fast-Atom Bombardement) in 3-Nitrobenzylalkohol als auch das ESI-Spektrum (Elektrospray-Ionisation) in Methanol/Wasser (1:1/V:V) waren jedoch wenig aussagekräftig. Beide Spektren waren durch eine große Anzahl von Signalen gekennzeichnet, wohingegen das Signal für das Molekül-Ion $[\text{M}+\text{H}]^+$ bei $m/z = 289$ von sehr geringer Intensität war. Die eindeutige Identifizierung von **1** war also in beiden Fällen nicht möglich.

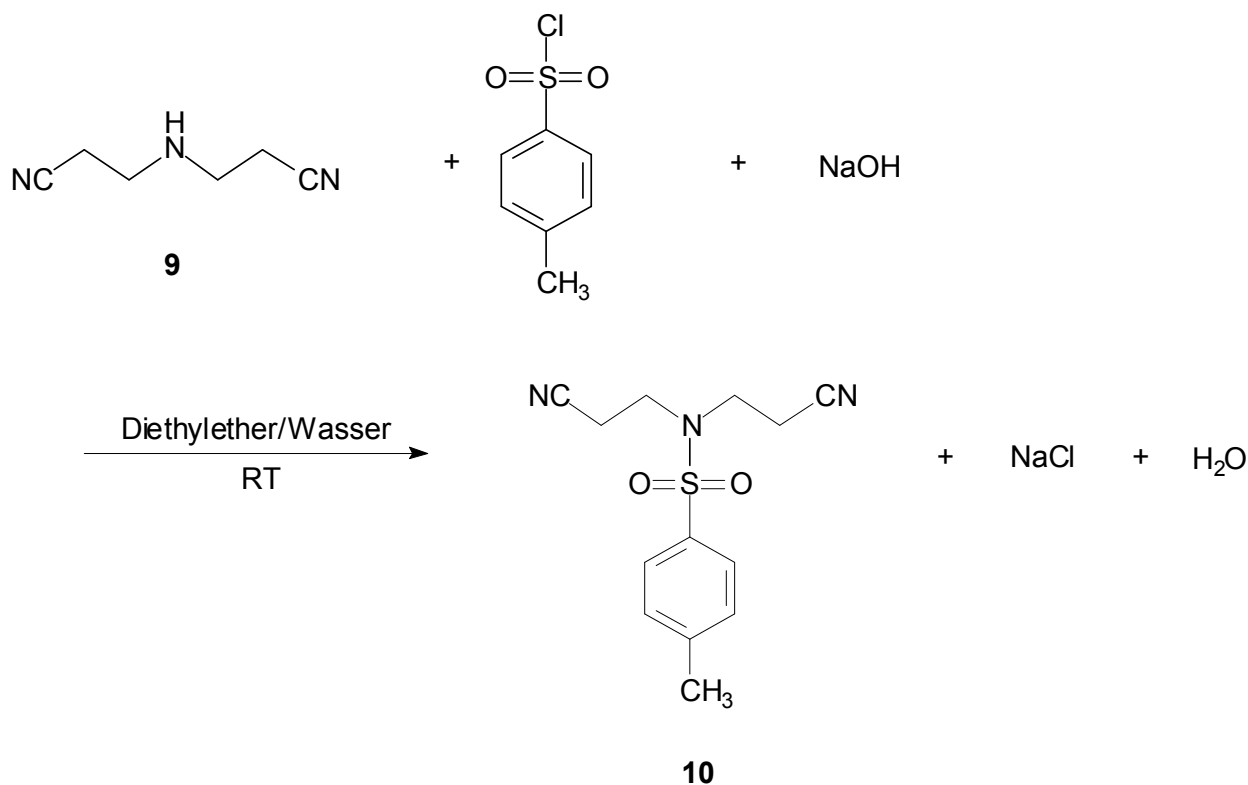
Für zwei weitere Ansätze wurden ähnliche Reaktionsbedingungen gewählt. Obwohl die Hydrierungen allesamt vollständig verliefen, konnte das Polyamin **1** in beiden Fällen nicht nachgewiesen werden. Die massenspektroskopischen Untersuchungen lieferten auch hier keine Hinweise auf das Vorhandensein von **1** im Rohprodukt. Die folgende Tabelle zeigt eine Zusammenstellung aller Ansatzgrößen, die bei den Folgeversuchen verwendet wurden.

Tab. 29: Ansatzgrößen für den Versuch zur Hydrierung von **8** mittels Lithiumaluminiumhydrid. Für beide Ansätze wurden gleiche Bedingungen gewählt. Die Ausbeuten sind auf das Polyamin **1** bezogen worden.

	2. Ansatz	3. Ansatz
Aminotetranitril 8	4.26 g, 15.6 mmol	4.37 g, 15.2 mmol
Lithiumaluminiumhydrid	7.91 g, 0.21 mol	9.98 g, 0.26 mol
Tetrahydrofuran (THF)	400 mL	450 mL
Ausbeute	0.77 g, 2.70 mmol (17 %)	2.76 g, 9.60 mmol (63 %)

9.2 Darstellung von *N,N*-Bis-(3-amino-propyl)-*N'*-{3-[bis-(3-amino-propyl)-amino]-propyl}-propan-1,3-diamin (2)

9.2.1 Umsetzung von 3,3'-Iminodipropionitril (9) mit *p*-Toluolsulfonsäurechlorid zu *N,N*-Bis-(2-cyano-ethyl)-*p*-toluolsulfonsäureamid (10)



1. Ansatz: In einem 1000 mL Becherglas wurden 24.5 g (0.20 mol) 3,3'-Iminodipropionitril (9) in 100 mL Wasser vorgelegt und unter Eiskühlung portionsweise mit 8.02 g (0.20 mol) Natriumhydroxid versetzt. Die Temperatur lag dabei zwischen 5 und 10 °C. Zu der auf 10 °C abgekühlten Lösung wurden 100 mL Diethylether gegeben, anschließend wurde 38.5 g (0.20 mol) *p*-Toluolsulfonsäurechlorid in kleinen Portionen so zugegeben, dass die Temperatur stets zwischen 5 und 10 °C lag. Nach Zugabe des Tosylchlorids wurde das farblose Zweiphasengemisch auf 40 °C erwärmt und der Ether aus dem Reaktionsgemisch entfernt. Dabei fiel ein farbloser Niederschlag aus. Nach dem Abkühlen auf Raumtemperatur wurde der Feststoff über einen Büchnertrichter abgetrennt, dreimal mit 50 mL Wasser gewaschen und über Nacht an der Luft getrocknet. Als Rohprodukt wurde ein farbloser Feststoff erhalten.

Ausbeute: 23.8 g, 0.09 mol (43 %)

2. Ansatz: In einem 3 L Becherglas wurden 96.5 g (0.78 mol) 3,3'-Iminodipropionitril (**9**) in 400 mL Wasser vorgelegt. Unter Eiskühlung wurde portionsweise 41.5 g (1.04 mol) Natriumhydroxid so zugegeben, dass die Temperatur 20 °C nicht überstieg. Zu der auf 15 °C abgekühlten Lösung wurden zunächst 400 mL Diethylether gegeben, anschließend wurden 149.0 g (0.78 mol) *p*-Toluolsulfonsäurechlorid in kleinen Portionen so zugegeben, dass die Temperatur auch hier stets zwischen 15 und 20 °C lag. Nach der Zugabe des Tosylchlorids wurde das Zweiphasengemisch auf 25 °C erwärmt, wobei nach 1.5 Stunden unter Rühren ein farbloser Feststoff ausfiel. Um den Ether zu entfernen, wurde das Reaktionsgemisch auf 30 – 35 °C erwärmt und zwei weitere Stunden bei dieser Temperatur gerührt. Das Reaktionsgemisch wurde im Anschluß daran auf 0°C abgekühlt und der farblose Niederschlag abgetrennt. Dieser wurde zweimal mit 250 mL kaltem Wasser und einmal mit 50 mL 2-Propanol gewaschen. Nach dem Trocknen unter Vakuum (ca. 0.7 – 1.0 hPa) bei 50 °C wurde das Tosylamid **10** als farbloser Feststoff erhalten.

Ausbeute an Rohprodukt: 52.0 g, 0.19 mol (24%)

Um die Tosylverbindung **10** zu reinigen, wurden 2.23 g (8.00 mmol) des Rohproduktes **10** aus Ethanol umkristallisiert. Nach zwei Tagen bei 4 °C wurde das gereinigte Tosylat abgetrennt und unter Vakuum (ca. 0.7 – 1.0 hPa) mehrere Stunden getrocknet. Das Produkt wurde in Form von farblosen, kurzen Nadeln erhalten.

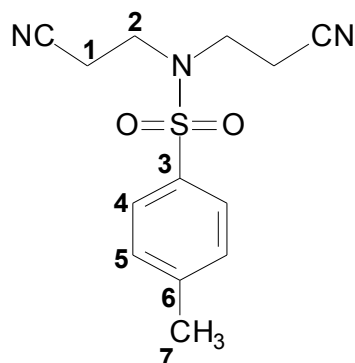
Auswaage: 1.43 g, 5.20 mmol (64%, Ausbeute an **10** bezogen auf eingesetztes Rohprodukt).

Schmp.: 60 - 63 °C

Elementaranalyse: C₁₃H₁₅N₃O₂S, Molmasse: 277.4 g/mol

ber.	C	56.28	H	5.41	N	15.15	S	11.56
gef.	C	56.19	H	5.47	N	14.85	S	11.54

^1H -NMR- und ^{13}C -NMR-spektroskopische Daten von **10**:

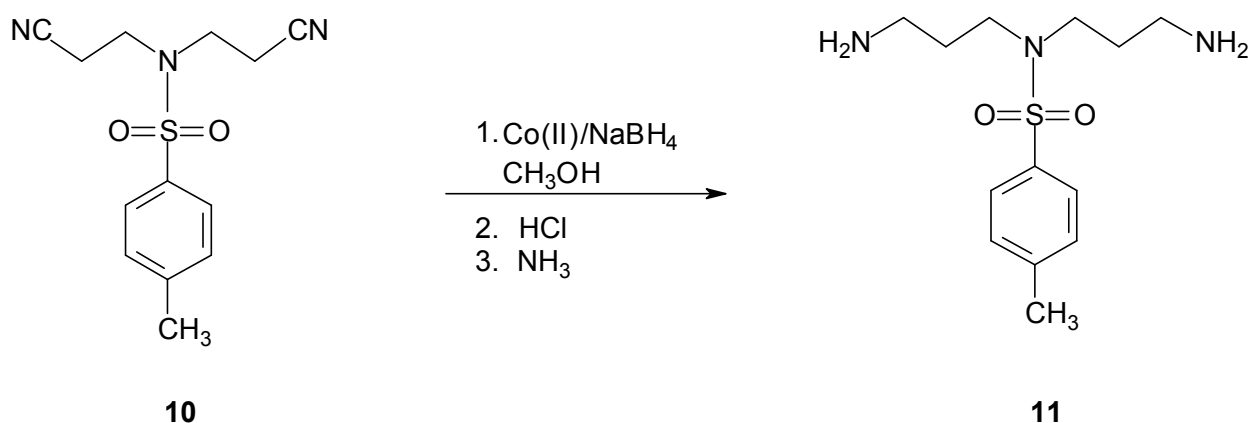


^1H -NMR-spektroskopische Daten von **10** (Aceton- d_6 , 200 MHz): δ [ppm] = 2.44 (s, 3H, H-7), 2.75 (t, 4H, $^3J = 7.0$ Hz, H-1), 3.46 (t, 4H, $^3J = 6.9$ Hz, H-2), 7.36 (d, 2H, $^3J = 8.3$ Hz, H-5), 7.71 (d, 2H, $^3J = 8.4$ Hz, H-4).

^{13}C -NMR-spektroskopische Daten von **10** (Aceton- d_6 , 50 MHz): δ [ppm] = 18.96 (C-1), 21.58 (C-7), 45.96 (C-2), 117.68 (CN), 127.35 (C-4), 130.34 (C-5), 134.92 (C-6), 144.86 (C-3).

IR (KBr) [cm^{-1}] = 3000 (w, $\nu(\text{CH}_{\text{arom.}})$), 2960, 2892 (w, $\nu(\text{CH}_{\text{aliph.}})$), 2242 (s, $\nu(\text{CN})$), 1590 (m, $\nu(\text{C}=\text{C})$), 1460 (m, $\delta(\text{CH}_{\text{aliph.}})$), 1335 und 1157 (s, $\nu(\text{SO}_2\text{N})$), 814 (s, (1,4-Di-substitution)).

9.2.2 Reduktion von *N,N*-Bis-(2-cyano-ethyl)-*p*-toluolsulfonsäureamid (**10**) mit Natriumborhydrid zu *N,N*-Bis-(3-amino-propyl)-*p*-toluolsulfonsäureamid (**11**)



1. Ansatz: In einem 3 L Becherglas wurden 13.3 g (47.9 mmol) *N,N*-Bis-(2-cyano-ethyl)-*p*-toluolsulfonsäureamid (**10**) und 22.6 g (95.2 mmol) Cobalt(II)-chlorid-Hexahydrat in 400 mL Methanol gelöst. Unter Rühren wurden zu der dunkelvioletten gefärbten Lösung 70.6 g (1.87 mol) Natriumborhydrid in kleinen Portionen so zugegeben, dass die Temperatur 45 - 50 °C nicht überstieg. Nach Zugabe der ersten Portion schlug die Farbe der Reaktionsmischung sofort nach schwarz um, und ein Niederschlag begann auszufallen. Die Zugabe des Hydrids erfolgte sehr vorsichtig, da die Suspension sich erwärmte und aufgrund der Entwicklung von Wasserstoff immer wieder sehr stark aufschäumte. Mit Zunahme der Zeit nahm die schwarze Suspension eine teigartige Konsistenz an, so dass weiteres Lösungsmittel, ebenfalls in mehreren Portionen, zugegeben werden musste. Insgesamt wurden zu den vorgelegten 400 mL Methanol noch 700 mL zugesetzt, so dass das Volumen am Ende der Zugabe bei 1100 mL lag. Es wurde noch eine Stunde bei Raumtemperatur nachgerührt. Das Reaktionsgemisch wurde daraufhin mit 350 mL konzentrierter Salzsäure vorsichtig angesäuert und der graue Niederschlag von der dunkelblauen Lösung über eine Glasfritte (D III) abgetrennt. Die Lösung wurde vollständig vom Lösungsmittel befreit, im Anschluß daran wurde der blaue Feststoff mit 450 mL konzentrierter Ammoniaklösung und 350 mL Chloroform versetzt und der rosafarbene Niederschlag ebenfalls über eine Glasfritte (D III) abgetrennt. Der Niederschlag wurde dann noch mit 50 mL Chloroform gewaschen. Beide Phasen wurden gemeinsam in einen 2 L Scheidetrichter überführt und voneinander getrennt. Die ammoniakalische Lösung wurde daraufhin nochmals mit 150 mL Chloroform extrahiert und vereinigt. Nach dem Trocknen über Magnesiumsulfat wurde das Lösungsmittel entfernt und das Rohprodukt als dunkelgraues Öl erhalten.

Ausbeute an Diamin **11**: 10.1 g, 33.5 mmol (74%)

2. Ansatz

<i>N,N</i> -Bis-(2-cyano-ethyl)- <i>p</i> -toluolsulfonsäureamid (10):	13.3 g, 0.05 mol
Cobalt(II)-chlorid-Hexahydrat:	26.7 g, 0.11 mol
Natriumborhydrid:	77.7 g, 2.06 mol

Der zweite Ansatz erfolgte in der gleichen Weise wie der Vorgegangene. Das Dinitril **10** und das Cobaltsalz wurden zunächst in 500 mL Methanol vorgelegt. Während der Zugabe von Natriumborhydrid wurden noch weitere 600 mL Methanol in mehreren Portionen

zugegeben, so dass nach der Reaktion das Volumen auch hier bei 1000 mL lag. Die Suspension wurde noch 1.5 Stunden bei Raumtemperatur nachgerührt. Das Ansäuern erfolgte mit 350 mL konzentrierter Salzsäure. Nach dem Entfernen des Lösungsmittels wurde der blaue Rückstand ebenfalls mit 450 mL konzentrierter Ammoniaklösung und 350 mL Chloroform versetzt. Der rosafarbene Niederschlag wurde abgetrennt und mit 100 mL Chloroform gewaschen, und die ammoniakalische Phase insgesamt dreimal mit 150 mL Chloroform extrahiert. Als Rohprodukt wurde auch hier ein dunkelgraues Öl erhalten.

Ausbeute an Diamin **11**: 6.97 g, 24.4 mmol (51%)

3. Ansatz

<i>N,N</i> -Bis-(2-cyano-ethyl)- <i>p</i> -toluolsulfonsäureamid (10):	16.3 g, 0.06 mol
Cobalt(II)-chlorid-Hexahydrat:	32.3 g, 0.14 mol
Natriumborhydrid:	91.4 g, 2.42 mol

Im dritten Ansatz wurde das Dinitril **10** und das Cobaltsalz in 600 mL Methanol vorgelegt. Natriumborhydrid wurde wieder portionsweise zu der Reaktionslösung gegeben. Weitere 600 mL Methanol mussten während der Zugabe zugesetzt werden, so dass insgesamt das Volumen am Ende der Reaktion bei 1200 mL lag. Die Suspension wurde 1 Stunde nachgerührt. Das Ansäuern erfolgte mit 420 mL konzentrierter Salzsäure, und nach dem Entfernen des Lösungsmittels wurde der blaue Rückstand mit 530 mL konzentrierter Ammoniaklösung sowie mit 420 mL Chloroform versetzt. Der rosafarbene Niederschlag wurde wieder abgetrennt und mit 100 mL Chloroform gewaschen. Die ammoniakalische Phase wurde daraufhin viermal mit 150 mL Chloroform extrahiert. Als Rohprodukt wurde wieder ein dunkelgraues Öl erhalten.

Ausbeute an Diamin **11**: 13.5 g, 47.2 mmol (81%)

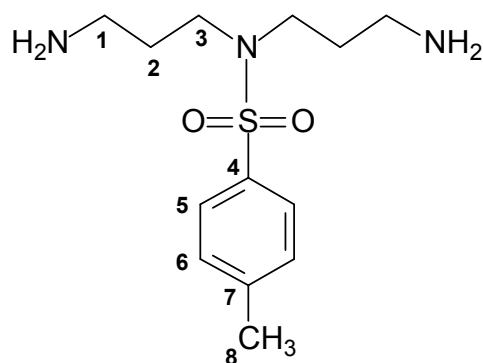
4. Ansatz

<i>N,N</i> -Bis-(2-cyano-ethyl)- <i>p</i> -toluolsulfonsäureamid (10):	17.6 g, 0.06 mol
Cobalt(II)-chlorid-Hexahydrat:	35.2 g, 0.15 mol
Natriumborhydrid:	98.2 g, 2.60 mol

Der Ansatz folgte in der Vorgehensweise den Vorangegangenen. Das Dinitril **10** und das Cobaltsalz wurden in 600 mL Methanol gelöst. Weitere 700 mL des Lösungsmittels mussten zugesetzt werden, so dass insgesamt das Volumen am Ende der Reaktion bei 1300 mL lag. Die Suspension wurde 1.75 Stunden nachgerührt. Mit 460 mL konzentrierter Salzsäure wurde angesäuert. Der blaue Rückstand wurde nach dem Entfernen des Lösungsmittels mit 590 mL konzentrierter Ammoniaklösung sowie mit 460 mL Chloroform versetzt. Die ammoniakalische Phase wurde einmal mit 200 mL, dreimal mit 150 mL und zweimal mit 100 mL Chloroform extrahiert. Als Rohprodukt wurde ein dunkelgraues Öl erhalten.

Ausbeute an Diamin **11**: 17.3 g, 60.5 mmol (96%)

^1H -NMR- und ^{13}C -NMR-spektroskopische Daten von **11**:

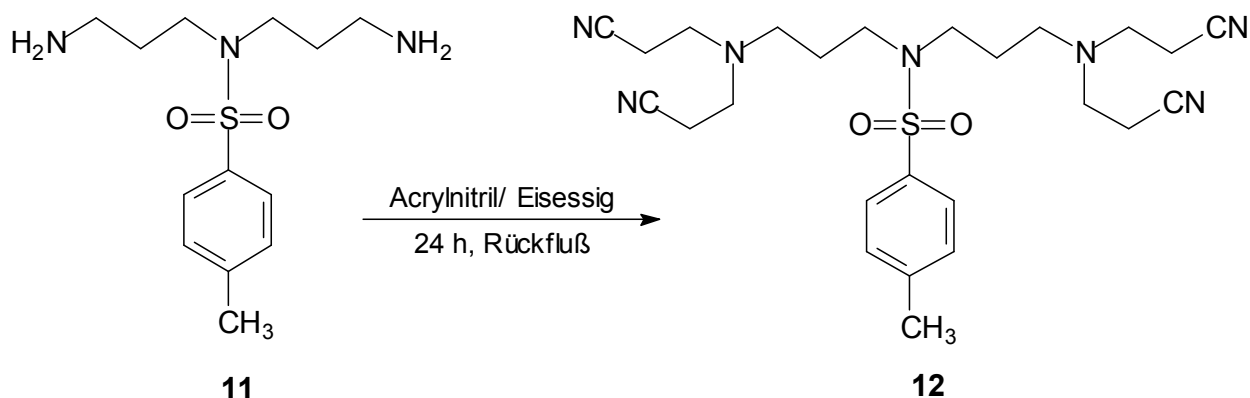


^1H -NMR-spektroskopische Daten von **11** (CDCl_3 , 200 MHz): δ [ppm] = 1.17 (*br s*, 4H, NH), 1.52 (quint., 4H, $^3J = 7.0$ Hz, H-2), 2.27 (s, 3H, H-8), 2.57 (t, 4H, $^3J = 6.6$ Hz, H-1), 3.04 (t, 4H, $^3J = 7.4$ Hz, H-3), 7.15 (d, 2H, $^3J = 8.1$ Hz, H-6), 7.54 (d, 2H, $^3J = 8.1$ Hz, H-5).

^{13}C -NMR-spektroskopische Daten von **11** (CDCl_3 , 50 MHz): δ [ppm] = 21.44 (C-8), 31.38 (C-2), 38.62 (C-1), 46.45 (C-3), 126.91 (C-5), 129.57 (C-6), 136.30 (C-7), 143.21 (C-4).

IR (KBr) [cm^{-1}] = 3360, 3264 (w, $\nu(\text{NH})$), 3053 (w, $\nu(\text{CH}_{\text{arom.}})$), 2930, 2862 (s, $\nu(\text{CH}_{\text{aliph.}})$), 1646 (m, $\delta(\text{NH}_2)$), 1598 (s, $\nu(\text{C}=\text{C})$), 1454 (s, $\delta(\text{CH}_{\text{aliph.}})$), 1330 und 1153 (s, $\nu(\text{SO}_2\text{N})$), 813 (s, (1,4-Disubstitution)).

9.2.3 Cyanethylierung: Umsetzung von *N,N*-Bis-(3-amino-propyl)-*p*-toluolsulfonsäureamid (**11**) mit Acrylnitril (**6**) zu *N,N*-Bis-{3-[bis-(2-cyano-ethyl)-amino]-propyl}-*p*-toluolsulfonsäureamid (**12**)



1. Ansatz: In einem 100 mL Einhalskolben mit Rückflusskühler wurden 2.80 g (9.80 mmol) des Diamins **11** in 50 mL Acrylnitril (**6**) vorgelegt. Die orangegefärbte, klare Lösung wurde mit 2.48 g (41.3 mmol) Eisessig versetzt und 26 Stunden unter Rückfluß zum Sieden erhitzt. Nicht umgesetztes Acrylnitril wurde im Anschluß daran entfernt, und der ölige Rückstand mit 30 mL Chloroform und 20 mL konzentrierter Ammoniaklösung versetzt. Die beiden Phasen wurden in einen 100 mL Scheidetrichter überführt und kräftig ausgeschüttelt. Die organische Phase wurde abgetrennt und die ammoniakalische Lösung nochmals mit 50 mL Chloroform extrahiert. Die vereinigten Chloroformphasen wurden daraufhin dreimal mit 50 mL Wasser gewaschen und über Natriumsulfat getrocknet. Nach dem Entfernen des Lösungsmittels wurde als Rohprodukt ein braunes Öl erhalten.

Ausbeute an Tetranitril **12**: 4.25 g, 8.50 mmol (87%).

2. Ansatz

<i>N,N</i> -Bis-(3-amino-propyl)- <i>p</i> -toluolsulfonsäureamid (11):	2.93 g, 10.3 mmol
Eisessig:	2.58 g, 43.0 mmol
Acrylnitril (6):	54 mL

Das Reaktionsgemisch wurde 37 Stunden unter Rückfluß zum Sieden erhitzt. Die Aufarbeitung erfolgte wie im ersten Ansatz beschrieben.

Ausbeute an Tetranitril **12**: 4.59 g, 9.20 mmol (90%)

3. Ansatz

<i>N,N</i> -Bis-(3-amino-propyl)- <i>p</i> -toluolsulfonsäureamid (11):	5.42 g, 19.0 mmol
Eisesssig:	4.69 g, 78.1 mmol
Acrylnitril (6):	100 mL

Das Reaktionsgemisch wurde 28 Stunden unter Rückfluss zum Sieden erhitzt. Die Aufarbeitung erfolgte wie im ersten Ansatz beschrieben. Überschüssiges Acrylnitril wurde entfernt und der ölige Rückstand mit 58 mL Chloroform und 38 mL konzentrierter Ammoniaklösung versetzt. Nach dem Ausschütteln im 250 mL Scheidetrichter wurde die Chloroformphase abgetrennt und die ammoniakalische Lösung nochmals mit 50 mL Chloroform extrahiert. Die vereinigten Chloroformphasen wurden daraufhin dreimal mit 100 mL Wasser gewaschen und über Natriumsulfat getrocknet. Nach dem Entfernen des Lösungsmittels wurde als Rohprodukt wieder ein braunes Öl erhalten.

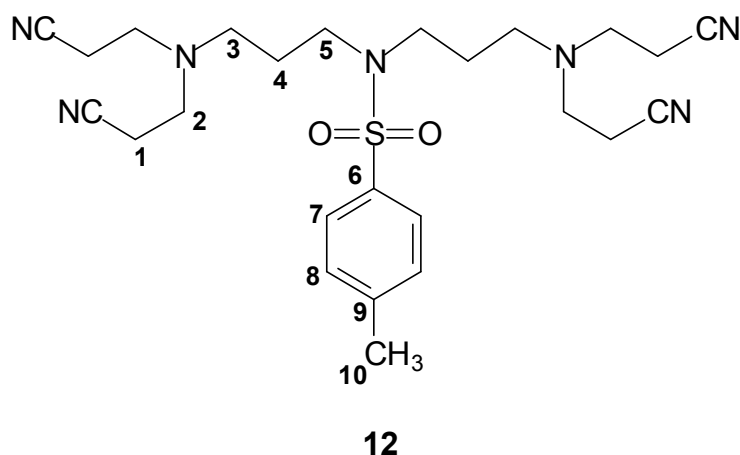
Ausbeute an Tetranitril **12**: 8.24 g, 16.6 mmol (87%).

4. Ansatz

<i>N,N</i> -Bis-(3-amino-propyl)- <i>p</i> -toluolsulfonsäureamid (11):	16.7 g, 58.4 mmol
Eisesssig:	14.4 g, 240 mmol
Acrylnitril (6):	300 mL

Das Reaktionsgemisch wurde 48 Stunden unter Rückfluß zum Sieden erhitzt. Der ölige Rückstand wurde mit 180 mL Chloroform und 120 mL konzentrierter Ammoniaklösung versetzt. Nach dem Ausschütteln im 500 mL Scheidetrichter wurde die Chloroformphase abgetrennt und die ammoniakalische Lösung nochmals mit 100 mL Chloroform extrahiert. Die vereinigten Chloroformphasen wurden dann dreimal mit 150 mL Wasser gewaschen und über Natriumsulfat getrocknet. Nach dem Entfernen des Lösungsmittels wurde das Rohprodukt als braunes Öl erhalten.

Ausbeute an Tetranitril **12**: 22.6 g, 45.5 mmol (78%).



^1H -NMR-spektroskopische Daten von **12** (CDCl_3 , 200 MHz): δ [ppm] = 1.74 (quint., 4H, 3J = 7.0 Hz, H-4), 2.42 (s, 3H, H-10), 2.48 (t, 8H, 3J = 6.6 Hz, H-2), 2.56 (t, 4H, 3J = 6.6 Hz, H-3), 2.81 (t, 8H, 3J = 6.6 Hz, H-1), 3.18 (t, 4H, 3J = 7.3 Hz, H-5), 7.31 (d, 2H, 3J = 8.4 Hz, H-8), 7.69 (d, 2H, 3J = 8.2 Hz, H-7).

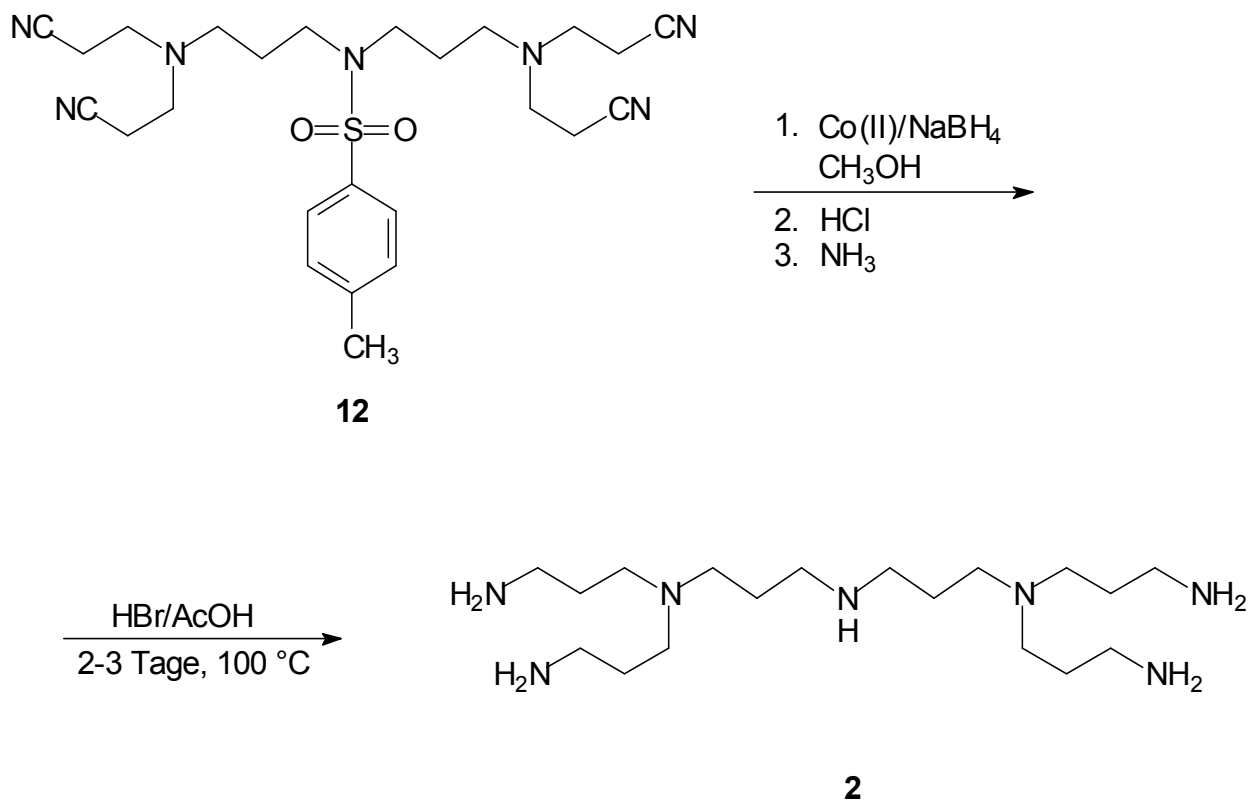
IR (KBr) [cm^{-1}] = 3009 (s, $\nu(\text{CH}_{\text{arom.}})$), 2945, 2863 (s, $\nu(\text{CH}_{\text{aliph.}})$), 2247 (s, $\nu(\text{CN})$), 1598 (s, $\nu(\text{C}=\text{C})$), 1463 (m, $\delta(\text{CH}_{\text{aliph.}})$), 1332 und 1151 (m, $\nu(\text{SO}_2\text{N})$), 816 (m, (1,4-Disubstitution)).

9.2.4 Darstellung von *N,N*-Bis-(3-amino-propyl)-*N'*-{3-[bis-(3-amino-propyl)-amino]-propyl}-propan-1,3-diamin (**2**) durch Reduktion von **12** und anschließender Entfernung der Schutzgruppe

Zur Darstellung von *N,N*-Bis-(3-amino-propyl)-*N'*-{3-[bis-(3-amino-propyl)-amino]-propyl}-propan-1,3-diamin (**2**) folgten zwei weitere Reaktionen. Der Entfernung der Schutzgruppe (Tosylatgruppe) in Bromwasserstoffsäure (48 proz.) und Eisessig ging die Reduktion von **12** zur Tetraamin-Zwischenstufe voraus. Auf eine vollständige Charaktisierung wurde jedoch verzichtet, so dass im Anschluss daran die Tosylatgruppe entfernt werden konnte. Allerdings wurde zuvor durch IR-spektroskopische Untersuchungen die Vollständigkeit der Hydrierung überprüft.

Zur Reduktion von *N,N*-Bis-{3-[bis-(2-cyano-ethyl)-amino]-propyl}-*p*-toluolsulfonsäureamid (**12**) wurden insgesamt vier Ansätze durchgeführt (vgl. 10.2.4.1). Dann wurden nach Entfernung der Schutzgruppe weitere Versuche durchgeführt, um das Polyamin **2** zu gewinnen. Die Isolierung von *N,N*-Bis-(3-amino-propyl)-*N'*-{3-[bis-(3-amino-propyl)-

amino]-propyl}-propan-1,3-diamin (**2**) gelang schließlich mittels konzentrierter Ammoniak- (25 proz.) und 40 – 50 proz. Natriumhydroxidlösung.



9.2.4.1 Versuche zur Reduktion von *N,N*-Bis-{3-[bis-(2-cyano-ethyl)-amino]-propyl}-*p*-toluolsulfonsäureamid (12) zur Tetraamin-Zwischenstufe

1. Ansatz: In einem 2 L Becherglas wurden 4.02 g (8.10 mmol) Tetranitril **12** und 7.76 g (32.4 mmol) Cobalt(II)chlorid-Hexahydrat in 100 mL Methanol vorgelegt. Unter Rühren wurden zu der dunkelvioletten gefärbten Lösung 25.0 g (0.66 mol) Natriumborhydrid in kleinen Portionen so zugegeben, dass die Temperatur 45 - 50 °C nicht überstieg. Nach Zugabe der ersten Portion schlug die Farbe der Reaktionsmischung sofort nach schwarz um, und ein Niederschlag begann auszufallen. Die schwarze Suspension nahm allmählich eine teigartige Konsistenz an, so dass weiteres Lösungsmittel, ebenfalls in mehreren Portionen, zugegeben werden musste. Insgesamt wurden zu den vorgelegten 100 mL Methanol noch 210 mL zugesetzt, so dass das Volumen am Ende der Zugabe bei insgesamt 310 mL lag. Es wurde noch eine halbe Stunde bei Raumtemperatur nachgerührt. Das Reaktionsgemisch wurde daraufhin mit 100 mL konzentrierter Salzsäure vorsichtig angesäuert und der graue Niederschlag von der dunkelblauen Lösung über

eine Glasfritte (D III) abgetrennt. Die Lösung wurde vollständig vom Lösungsmittel befreit. Im Anschluß daran wurde der blaue Feststoff mit 125 mL konzentrierter Ammoniaklösung und 95 mL Chloroform versetzt und kräftig gerührt. Der rosafarbene Niederschlag wurde im Anschluß daran über eine Glasfritte (D III) abgetrennt. Beide Phasen wurden gemeinsam in einen Scheidetrichter überführt und voneinander getrennt. Die ammoniakalische Lösung wurde daraufhin fünfmal mit 100 mL Chloroform extrahiert. Alle Chloroformphasen wurden vereinigt. Nach dem Trocknen über Magnesiumsulfat wurde das Lösungsmittel entfernt und das Rohprodukt als dunkelgraues Öl erhalten.

Auswaage: 2.84 g, 5.50 mmol (63 %, Ausbeute bezogen auf die Tetraamin-Zwischenstufe)

2. Ansatz

Tetranitril 12	4.59 g, 9.20 mmol
Cobalt(II)-chlorid-Hexahydrat:	9.52 g, 40.2 mmol
Natriumborhydrid:	29.19 g, 0.77 mol

Der zweite Ansatz erfolgte in der gleichen Weise wie der Vorangegangene. Das Teranitril **12** und das Cobaltsalz wurden zunächst in 150 mL Methanol vorgelegt. Während der Zugabe von Natriumborhydrid wurden noch weitere 180 mL Methanol in mehreren Portionen zugegeben, so dass nach der Reaktion das Volumen auch hier bei 330 mL lag. Die Suspension wurde 3.5 Stunden bei Raumtemperatur nachgerührt. Das Ansäuern erfolgte mit 120 mL konzentrierter Salzsäure. Nach dem Entfernen des Lösungsmittels wurde der blaue Rückstand mit 150 mL konzentrierter Ammoniaklösung und 100 mL Chloroform versetzt. Der rosafarbene Niederschlag wurde abgetrennt und mit 30 mL Ammoniaklösung und zweimal mit 30 mL Chloroform gewaschen. Die ammoniakalische Phase wurde sechsmal mit 100 mL Chloroform extrahiert. Als Rohprodukt wurde auch hier ein dunkelgraues Öl erhalten.

Auswaage: 4.01 g, 7.80 mmol (85 %, Ausbeute bezogen auf die Tetraamin-Zwischenstufe)

3. Ansatz

Tetranitril 12	6.70 g, 13.5 mmol
Cobalt(II)-chlorid-Hexahydrat:	14.7 g, 61.9 mmol
Natriumborhydrid:	42.6 g, 1.13 mol

Im dritten Ansatz wurden Verbindung **12** und das Cobaltsalz in 220 mL Methanol vorgelegt. Weitere 280 mL Methanol mussten während der Zugabe des Natriumborhydrids zugesetzt werden, so dass das Volumen am Ende der Reaktion bei 500 mL lag. Die Suspension wurde 2.5 Stunden nachgerührt. Das Ansäuern erfolgte mit 180 mL konzentrierter Salzsäure, und nach dem Entfernen des Lösungsmittels wurde der blaue Rückstand mit 220 mL konzentrierter Ammoniaklösung sowie mit 150 mL Chloroform versetzt. Der rosafarbene Niederschlag wurde abgetrennt und einmal mit 80 mL Ammoniaklösung sowie zweimal mit 30 mL Chloroform gewaschen. Die ammoniakalische Phase wurde dann noch sechsmal mit 100 mL Chloroform extrahiert.

Auswaage: 5.70 g, 11.1 mmol (82 %, Ausbeute bezogen auf die Tetraamin-Zwischenstufe)

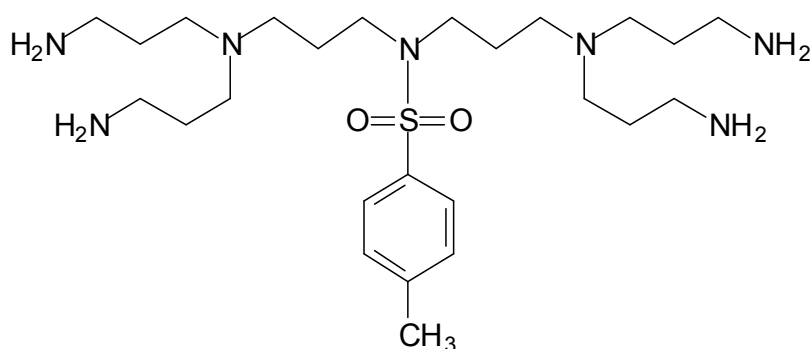
4. Ansatz

Tetranitril 12	15.4 g, 31.0 mmol
Cobalt(II)-chlorid-Hexahydrat:	36.2 g, 152 mmol
Natriumborhydrid:	100.7 g, 2.66 mol

Das Tetranitril **12** und das Cobaltsalz wurden in 500 mL Methanol gelöst. Weitere 700 mL des Lösungsmittels mussten zugesetzt werden, so dass insgesamt das Volumen am Ende der Reaktion bei 1200 mL lag. Die Suspension wurde eine Stunde bei Raumtemperatur nachgerührt. Mit 270 mL konzentrierter Salzsäure wurde angesäuert, und der blaue Rückstand wurde nach dem Entfernen des Lösungsmittels mit 500 mL konzentrierter Ammoniaklösung sowie mit 340 mL Chloroform versetzt. Der Niederschlag wurde abgetrennt und jeweils einmal mit 100 mL Ammoniaklösung und 100 mL Chloroform gewaschen. Die ammoniakalische Phase wurde dann einmal mit 200 mL, dreimal mit 150 mL und zweimal mit 100 mL Chloroform extrahiert. Als Produkt wurde ein dunkelbraunes Öl erhalten.

Auswaage: 14.7 g, 28.7 mmol (93 %, Ausbeute bezogen auf die Tetraamin-Zwischenstufe).

Nach den Umsetzungen wurden alle Rohprodukte IR-spektroskopisch untersucht. Dabei zeigte sich, dass die Reduktion zur Tetraamin-Zwischenstufe in allen Fällen vollständig verlaufen war, so dass im Anschluss daran die Entfernung der Schutzgruppe erfolgen konnte.



Tetraamin - Zwischenstufe

IR (Film) [cm^{-1}] = 3279 (m, $\nu(\text{NH})$), 3016 (w, $\nu(\text{CH}_{\text{arom.}})$), 2926, 2862, 2808 (s, $\nu(\text{CH}_{\text{aliph.}})$), 1658 (w, $\delta(\text{NH}_2)$), 1594 (s, $\nu(\text{C}=\text{C})$), 1458 (s, $\delta(\text{CH}_{\text{aliph.}})$), 1332 und 1155 (s, $\nu(\text{SO}_2\text{N})$), 811 (m, (1,4-Disubstitution)).

9.2.4.2 Versuche zur Entfernung der Schutzgruppe und Isolierung von *N,N*-Bis-(3-amino-propyl)-*N'*-{3-[bis-(3-amino-propyl)-amino]-propyl}-propan-1,3-diamin (2) als freie Base

1. Variante: In einem 500 mL Einhalskolben mit Rückflusskühler wurden 9.73 g (18.9 mmol) der Tetraamin-Zwischenstufe in einer Lösung aus 180 mL 48 proz. Bromwasserstoffsäure und 100 mL Eisessig 74 Stunden auf 100 °C erwärmt. Überschüssiges Lösungsmittel wurde unter Normaldruck entfernt, wobei als Rückstand ein braun gefärbtes Öl verblieb, das bereits nach wenigen Minuten zu einer gelartigen Masse erstarrte. Auswaage 17.9 g, 19.3 mmol (102 %, Ausbeute bezogen auf 2·7HBr).

Zur weiteren Aufbereitung wurde der Rückstand zunächst in 20 mL Bromwasserstoffsäure (48 proz.) und 10 mL Eisessig aufgenommen, anschließend wurden 5 mL der

Lösung entnommen und tropfenweise zu einer Mischung aus 400 mL Ethanol und 200 mL Diethylether gegeben. Dabei fiel ein feiner, hellbraun gefärbter Niederschlag aus, der nach der Trennung über eine Umkehrfritte (D III) und Waschen mit Diethylether (2 X 10 mL) mehrere Stunden unter Vakuum (ca. 0.5 – 0.7 hPa) getrocknet werden konnte. Auswaage: 1.44 g, 1.56 mmol (8 %, Ausbeute bezogen auf **2**·7HBr).

Um das Polyamin **2** als freie Base zu isolieren, wurde der Feststoff zunächst in 30 mL Wasser gelöst. Nach Zugabe von 17.5 g festem Natriumhydroxid wurde ein Zweiphasengemisch erhalten, dass in einen 100 mL Scheidetrichter überführt und viermal mit je 40 mL Methylenchlorid extrahiert wurde. Nach dem Trocknen über Natriumsulfat wurde das Lösungsmittel entfernt, wobei das Rohamin **2** als viskoses Öl erhalten wurde. Auswaage: 0.88 g, 2.45 mmol (13 %, Ausbeute bezogen auf **2**)

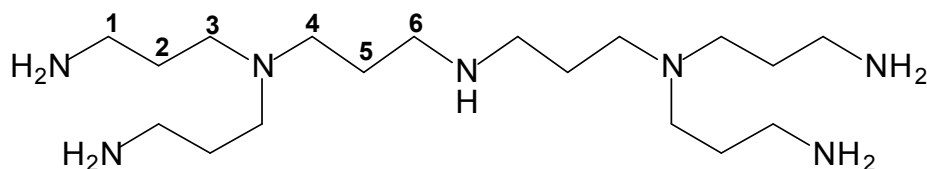
2. Variante: In einem 500 mL Einhalskolben mit Rückflusskühler wurden 14.7 g (28.7 mmol) der Tetraamin-Zwischenstufe in einer Lösung aus 260 mL 48 proz. Bromwasserstoffsäure und 140 mL Eisessig 68 Stunden auf 100 °C erwärmt. Das braune Reaktionsgemisch wurde unter Normaldruck auf etwa 20 proz. seines Volumens eingeeengt, anschließend wurden zweimal je 10 mL davon entnommen und langsam zu einer Lösung aus 600 mL Ethanol und 300 mL Diethylether getropft. Das Hydrobromid-Salz von **2** fiel dabei als schwach braun gefärbter Niederschlag aus, der unter Schutzgas über eine Umkehrfritte (D III) von der gelben Lösung abgetrennt werden konnte. Nach dem Lösen in 100 mL konzentrierter Ammoniaklösung (25 proz.) wurde die alkalische, wässrige Phase zweimal mit je 75 mL sowie viermal mit je 50 mL Chloroform extrahiert. Nach dem Trocknen über Magnesiumsulfat und Entfernung des Lösungsmittels wurde das Polyamin **2** als viskoses Öl erhalten. Auswaage: 1.89 g, 5.26 mmol (18 %, Ausbeute bezogen auf **2**).

Um das Polyamin **2** identifizieren zu können, folgten zwei massenspektroskopische Untersuchungen. Eine FAB-Aufnahme (Fast-Atom Bombardement) erfolgte in 3-Nitrobenzylalkohol, während die Aufnahme eines ESI-Spektrums (Elektrospray-Ionisation) in Methanol/Wasser (1:1/V:V) durchgeführt wurde.

MS (FAB, 40 kV): $m/z = 360$ $[M+H]^+$

MS (ESI, *positive ion mode*, Methanol): $m/z = 360$ $[M+H]^+$

^1H -NMR- und ^{13}C -NMR-spektroskopische Daten von *N,N*-Bis-(3-amino-propyl)-*N'*-{3-[bis-(3-amino-propyl)-amino]-propyl}-propan-1,3-diamin (**2**):

**2**

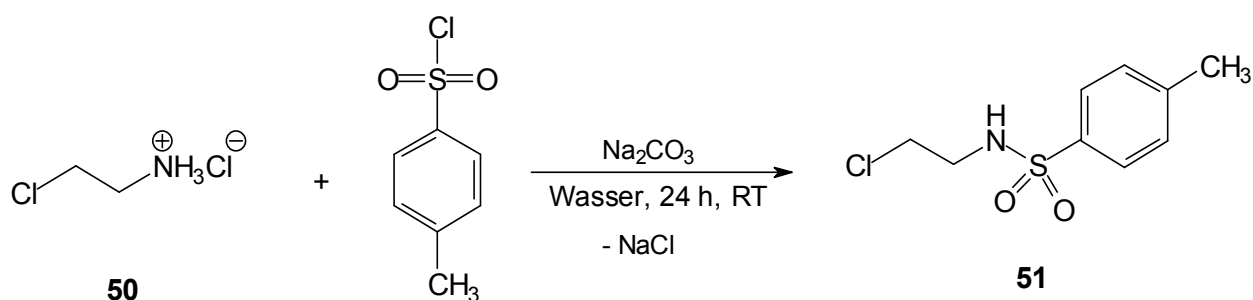
^1H -NMR-spektroskopische Daten von **2** (D_2O , 500 MHz): δ [ppm] = 1.25 – 1.45 (m, 6H, H-2, H-5), 2.15 – 2.40 (m, 12H, H-1, H-3, H-4, H-6).

^{13}C -NMR-spektroskopische Daten von **2** (D_2O , 125 MHz): δ [ppm] = 27.74 (C-5), 31.20 (C-2), 41.82 (C-1), 49.54 (C-6), 53.39 (C-3), 53.70 (C-4).

^{13}C -NMR-spektroskopische Daten von **2** (CDCl_3 , 50 MHz): δ [ppm] = 27.50 (C-5), 30.87 (C-2), 40.64 (C-1), 48.68 (C-6), 51.90 (C-3), 52.44 (C-4).

9.2.5 Versuche zur Darstellung von *N,N*-Bis-(2-amino-ethyl)-*N'*-{2-[bis-(2-amino-ethyl)-amino]-propyl}-propan-1,3-diamin (**22**)

9.2.5.1 Umsetzung von 2-Chlorethylaminhydrochlorid (**50**) mit *p*-Toluolsulfonsäurechlorid zu *N*-(*p*-toluolsulfonyl)-2-chlorethylamin (**51**)^[73]

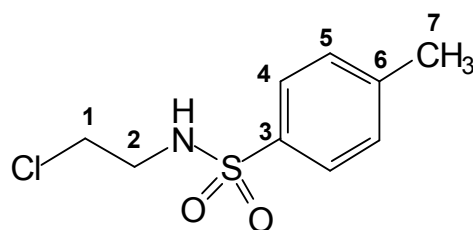


Zu einer Lösung aus 34.9 g (0.30 mol) 2-Chloethylaminhydrochlorid (**50**) und 33.6 g (0.32 mol) Natriumcarbonat in 1200 mL Wasser wurden bei Raumtemperatur unter Rühren

portionsweise 71.1 g (0.37 mol) *p*-Toluolsulfonsäurechlorid gegeben. Das Zweiphasengemisch wurde dann zwei Tage bei Raumtemperatur gerührt. Anschließend wurde der farblose Feststoff abgetrennt, zweimal mit 1000 mL Wasser gewaschen und über Nacht an der Luft getrocknet. Um Reste von Wasser zu entfernen, wurde das Tosylamid **51** im Anschluss daran mehrere Stunden unter Vakuum (ca. 0.7 – 1.0 hPa) getrocknet. Als Rohprodukt wurde ein farbloser Feststoff erhalten.

Ausbeute an Tosylamid **51**: 52.0 g, 0.22 mol (74%; Lit.^[73]: 78 %)

¹H-NMR- und ¹³C-NMR-spektroskopische Daten von **51**:

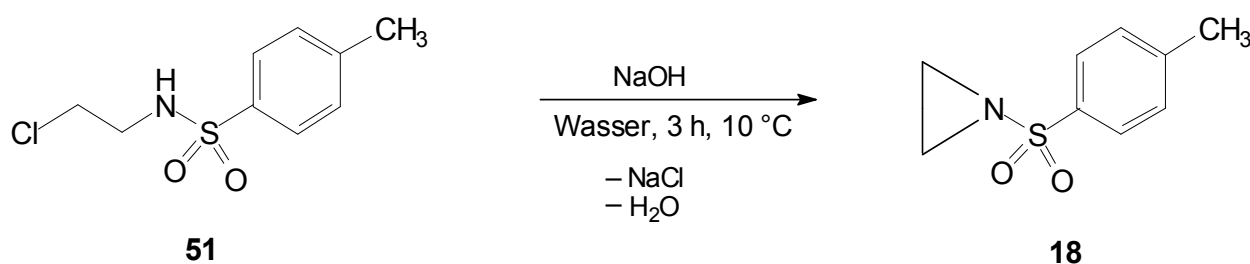


51

¹H-NMR-spektroskopische Daten von **51** (CDCl₃, 200 MHz): δ [ppm] = 2.40 (s, 3H, H-7), 3.25 (t, 2H, ³J = 6.0 Hz, H-2), 3.51 (t, 2H, ³J = 8.0 Hz, H-1), 7.29 (d, 2H, ³J = 7.6 Hz, H-5), 7.75 (d, 2H, ³J = 8.2 Hz, H-4).

¹³C-NMR-spektroskopische Daten von **51** (CDCl₃, 50 MHz): δ [ppm] = 21.54 (C-7), 43.35 (C-1), 44.73 (C-2), 127.09 (C-4), 129.91 (C-5), 137.02 (C-6), 143.84 (C-3).

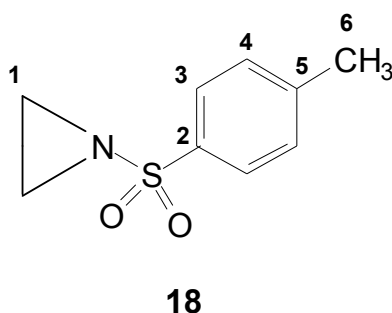
9.2.5.2 Umsetzung von *N*-(*p*-toluolsulfonyl)-2-chlorethylamin (**51**) zu *p*-Toluolsulfonylaziridin (**18**)^[73]



Zu einer Lösung aus 33.9 g (0.85 mol) Natriumhydroxid in 600 mL Wasser wurden unter Eiskühlung und Rühren portionsweise 47.3 g (0.20 mol) *N*-(*p*-toluolsulfonyl)-2-chlorethylamin (**51**) gegeben. Das Tosylamid **51** wurde so zugegeben, dass die Temperatur stets bei etwa 0 °C lag. Nach der Zugabe wurde das farblose Reaktionsgemisch eine Stunde bei derselben Temperatur gerührt, anschließend wurde das Eisbad entfernt und eine weitere Stunde bei Raumtemperatur stehen gelassen. Im Anschluss daran wurde der Feststoff über einen Büchnertrichter abgetrennt, dreimal mit 1000 mL Wasser gewaschen und unter Vakuum (ca. 0.7 – 1.0 hPa) getrocknet. Als Rohprodukt wurde auch hier ein farbloser Feststoff erhalten.

Ausbeute an *p*-Toluolsulfonylaziridin (**18**): 21.5 g, 0.12 mol (61%; Lit.^[73]: 78 %)

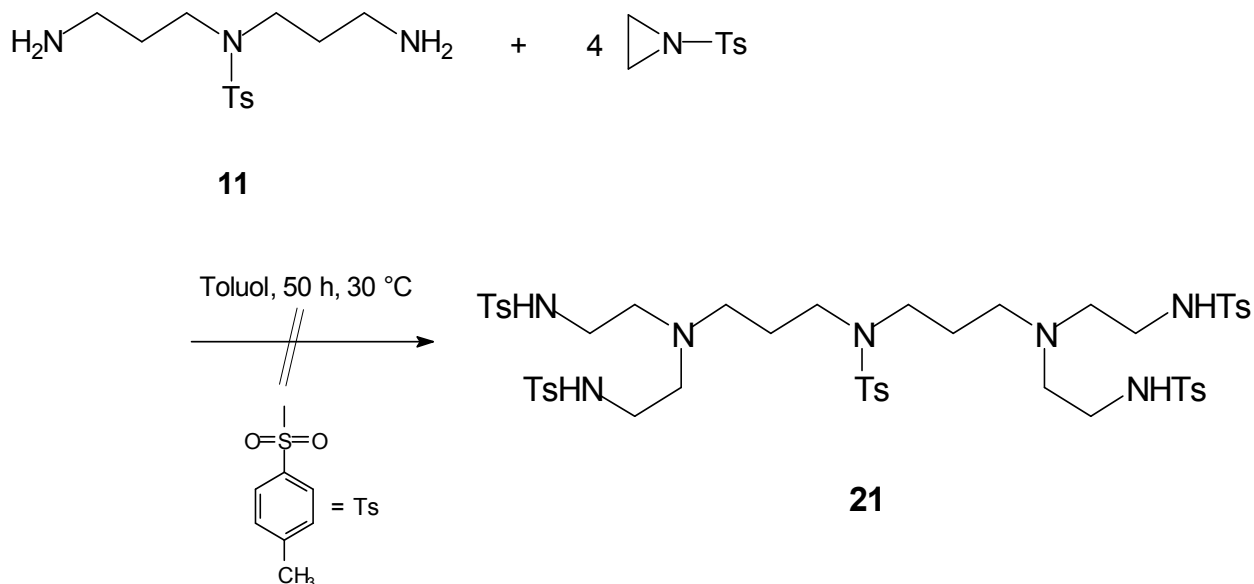
¹H-NMR- und ¹³C-NMR-spektroskopische Daten von **18**:



¹H-NMR-spektroskopische Daten von **18** (CDCl₃, 500 MHz): δ [ppm] = 2.30 (s, 3H, H-6), 2.39 (s, 4H, H-1), 7.30 (d, 2H, ³*J* = 8.0 Hz, H-4), 7.78 (d, 2H, ³*J* = 8.4 Hz, H-3).

¹³C-NMR-spektroskopische Daten von **18** (CDCl₃, 125 MHz): δ [ppm] = 21.47 (C-6), 27.28 (C-1), 127.83 (C-3), 129.61 (C-4), 134.64 (C-5), 144.55 (C-2).

9.2.5.3 Versuche zur Addition von *p*-Toluolsulfonylaziridin (**18**) an *N,N*-Bis-(3-amino-propyl)-*p*-toluolsulfonsäureamid (**11**)



1. Ansatz: Zu einer Lösung aus 5.74 g (0.02 mol) *N,N*-Bis-(3-amino-propyl)-*p*-toluolsulfonsäureamid (**11**) in 25 mL trockenem Toluol wurde unter Schutzgas tropfenweise eine Lösung von 21.5 g (0.12 mol) *p*-Toluolsulfonylaziridin (**18**) in 50 mL Toluol gegeben. Nach drei Stunden war die Zugabe abgeschlossen, so dass im Anschluss daran das Reaktionsgemisch zunächst zwei Tage bei Raumtemperatur, dann ein weiterer Tag bei 30 °C gerührt werden konnte. Zur Aufarbeitung wurde das Lösungsmittel entfernt und als Rohprodukt ein braun gefärbtes, viskoses Öl erhalten, das nach zwei Tagen zu einer glasartigen Masse erstarrte. Auswaage: 26.4 g.

2. Ansatz: Eine Lösung aus 4.39 g (15.4 mmol) *N,N*-Bis-(3-amino-propyl)-*p*-toluolsulfonsäureamid (**11**) in 25 mL trockenem Toluol wurde unter Schutzgasatmosphäre langsam (75 Minuten) zu einer Lösung von 14.5 g (73.5 mmol) *p*-Toluolsulfonylaziridin (**18**) in 25 mL trockenem Toluol getropft. Nach der Zugabe wurde das Reaktionsgemisch über Nacht bei Raumtemperatur, dann drei weitere Tage bei 30 °C gerührt. Der orange gefärbte Feststoff konnte im Anschluss daran durch Dekantieren von der farblosen Toluolphase abgetrennt werden. Zuletzt wurde dieser mit wenig Toluol gewaschen und mehrere Stunden unter Vakuum (ca. 0.7 – 1.0 hPa) getrocknet. Als Produkt wurde ein orange gefärbter, ebenfalls glasartiger Feststoff erhalten. Auswaage: 14.3 g.

Im Anschluss an die Synthesen folgten ^1H - und ^{13}C -NMR-spektroskopische Untersuchungen in CDCl_3 , um zu klären, ob es bei der Reaktion tatsächlich zur Bildung von **21** gekommen war. Da sämtliche Spektren eine Vielzahl von Signalen zeigten, war eine genaue Zuordnung nicht möglich. Auf weitere Reinigungsschritte wurde daher verzichtet, so dass im Anschluss an die spektroskopischen Untersuchungen die Hydrolyseversuche mit Bromwasserstoff und Eisessig erfolgten.

9.2.5.4 Entfernung der Tosylatgruppen (Detosylierung) durch Hydrolyse mit Bromwasserstoff und Eisessig

Isolierung und Charakterisierung der Hydrolyseprodukte nach Ionenchromatographischer Trennung

Eine Suspension aus 25.0 g (0.27 mol) Phenol in einem Gemisch aus 20 mL Bromwasserstoff (48 proz.) und 25 mL Eisessig wurde mit 28.2 g der glasartigen Verbindung versetzt und 40 Stunden auf 120 °C erwärmt. Das rot gefärbte Reaktionsgemisch wurde danach auf Raumtemperatur abgekühlt und weitere 2.5 Tage bei derselben Temperatur gerührt. Zur Aufbereitung wurde das Zweiphasengemisch dann in einen 250 mL Scheidetrichter überführt, um die gelb gefärbte, wässrige Phase von der roten, phenolhaltigen organischen Phase abzutrennen. Im Anschluss daran wurde die wässrige Phase fast bis zur Trockne eingeeengt, wobei als Rückstand ein schwach braun gefärbter, salzartiger Feststoff verblieb. Auswaage: 27.5 g.

Auch hier waren die ^1H - und ^{13}C -NMR-Spektren in D_2O durch eine Vielzahl von Signalen gekennzeichnet, so dass die Zielverbindung *N,N*-Bis-(2-amino-ethyl)-*N'*-{2-[bis-(2-amino-ethyl)-amino]-propyl}-propan-1,3-diamin (**22**) nicht identifiziert werden konnte. Erwartet wurde das Polyamin **22** als vollständig protoniertes Hydrobromid-Salz **22**·7HBr. Um das Rohprodukt weiter aufzureinigen, folgten Ionenchromatographische Versuche. Als Ionenaustauscher stand dabei das stark basische Dowex (1X8) in der Chlorid-Form mit einer Teilchengröße von 50 - 100 mesh zur Verfügung. Aktive Gruppe war die Trimethylammoniumgruppe.

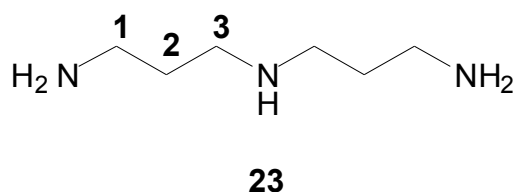
Vorbereitung der Säule und Überführung des Austauschers in die Cl^- -Form: Damit die chromatographische Trennung durchgeführt werden konnte, musste die Säule entsprechend vorbereitet werden. Zu diesem Zweck musste der Austauscher zunächst in

die Säule gefüllt und anschließend in die OH^- -Form überführt werden. Die mit CO_2 -freiem Wasser gefüllte Austauschersäule (10.8 X 1.9 cm) wurde portionsweise zu dreiviertel mit einer Aufschlämmung des Austauschers in Wasser gefüllt. Bei allen Arbeitsschritten musste darauf geachtet werden, dass das gesamte Austauscherharz stets von Flüssigkeit bedeckt war und keine Luftblasen eingeschleppt wurden. Die vollständige Überführung des Ionenaustauschers von der Cl^- - in die OH^- -Form erfolgte dann mit einer Lösung aus 1.10 g Natriumhydroxid in 100 mL CO_2 -freiem Wasser (1 proz.). Die Tropfgeschwindigkeit lag im Durchschnitt bei etwa einem Tropfen pro Sekunde. Zuletzt wurde der Austauscher solange mit CO_2 -freiem Wasser gewaschen, bis die ablaufende Flüssigkeit nicht mehr alkalisch ($\text{pH} = 7$) reagierte.

Vorbereitung der Probe: 5.64 g des nach der Detosylierung erhaltenen Rückstandes wurden in 20 mL Bromwasserstoffsäure (48 proz.) aufgenommen und langsam zu einer Lösung aus 200 mL Diethylether und 200 mL Ethanol getropft. Dabei fiel ein braun gefärbter Niederschlag aus, der nach der Trennung über eine Umkehrfritte (D III) mit wenig Diethylether gewaschen und unter Vakuum (ca. 0.7 – 1.0 hPa) gerocknet wurde. Auswaage: 1.55 g. Zur chromatographischen Trennung wurde der Feststoff in 10 mL Wasser gelöst.

Chromatographische Trennung: Die in 10 mL CO_2 -freiem Wasser gelöste Probe wurde zunächst mittels einer Pasteurpipette nach und nach auf die Säule getragen. Danach wurde solange mit CO_2 -freiem Wasser nachgespült, bis das Eluat nicht mehr alkalisch reagierte ($\text{pH} = 7$). Die Tropfgeschwindigkeit wurde mit einem Tropfen pro Sekunde auch hierbei nicht zu hoch gewählt. Alle alkalischen Fraktionen wurden auf ihren pH-Wert überprüft, gesammelt und zu einer Gesamtfraktion vereinigt (Gesamtvolumen ca. 100 mL; $\text{pH} \approx 8$). Als nächstes wurde diese Fraktion auf etwa 1/10 ihres Volumens wieder eingeeengt und erneut auf die zuvor regenerierte Säule aufgetragen. Nachdem auch hier alle alkalischen Fraktionen überprüft, gesammelt und vereinigt worden waren, wurde die Lösung ($\text{pH} \approx 10$) mit halbkonzentrierter Salzsäure auf $\text{pH} \approx 3$ eingestellt. Nach dem Entfernen des Lösungsmittels wurde zunächst ein schwach gelb gefärbtes Öl erhalten, dass nach wenigen Tagen erstarrte: Auswaage: 0.92 g. Die glasartige Masse wurde fein zermahlen, dann mit 20 mL Methanol versetzt und über Nacht bei Raumtemperatur gerührt. Danach wurde der farblose Niederschlag abgetrennt und mit wenig Methanol gewaschen. Nach dem Trocknen unter Vakuum (ca 0.7 – 1.0 hPa) wurde als Produkt ein

farbloses Pulver erhalten: Auswaage: 0.61 g. Zur Charaktersierung folgten schließlich ^1H -NMR- und ^{13}C -NMR-spektroskopische Untersuchungen in D_2O . Beide Spektren in D_2O zeigten eindeutig die Bildung von Dipropylentriamin (**23**). Somit war automatisch bewiesen, dass es bei der Addition von *p*-Toluolsulfonylaziridin (**18**) an *N,N*-Bis-(3-amino-propyl)-*p*-toluolsulfonsäureamid (**11**) nicht zur Bildung des verzweigten Amids **21** gekommen war. Verbindung **11** blieb während der Tosylierung durch **18** unverändert (vgl. 10.2.5.3). Daher wurde nach der ionenchromatographischen Trennung auch nicht das Polyamin **22** erhalten, sondern das unverzweigte Triamin **23**. Bei dem isolierten Feststoff handelte es sich zweifellos um das Hydrochlorid Salz **23**·3HCl.

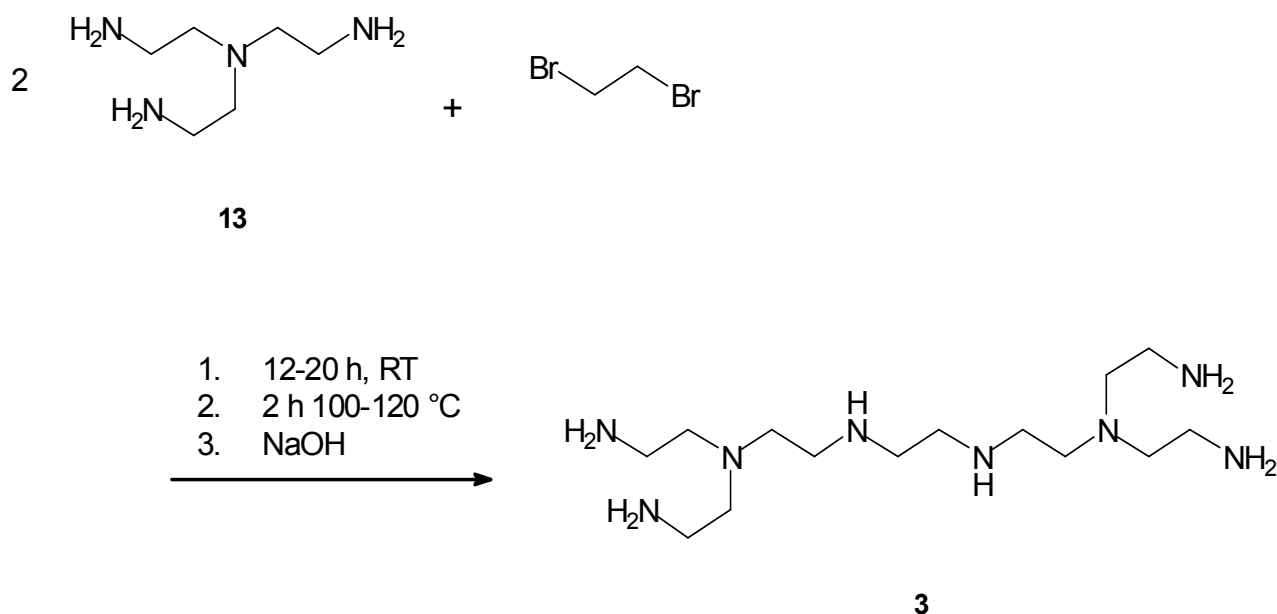


^1H -NMR-spektroskopische Daten von **23**·3HCl (D_2O , 500 MHz): δ [ppm] = 1.42 (quint., 3J = 7.2 Hz, 2H, H-2), 2.41 (t, 3J = 7.4 Hz, 2H, H-1), 2.46 (t, 3J = 7.1 Hz, 2H, H-3).

^{13}C -NMR-spektroskopische Daten von **23**·3HCl (D_2O , 125 MHz): δ [ppm] = 34.31 (C-2), 41.33 (C-1), 48.90 (C-3).

9.3 Synthese von *N,N*-Bis-(2-amino-ethyl)-*N'*-(2-{2-[bis-(2-amino-ethyl)-amino]-ethylamino}-ethyl)-ethan-1,2-diamin (**3**)

9.3.1 Reaktion von Tris-(2-aminoethyl)-amin (**13**) mit 1,2-Dibromethan



Tris-(2-aminoethyl)-amin (**13**) diene bei allen Ansätzen auch als Lösungsmittel. Die Reinheit des von der Firma Fluka erworbenen Amins lag bei ca. 96 %, so dass das Edukt vor jeder Umsetzung frisch destilliert und unter Schutzgas aufbewahrt wurde (Sdp.: 93 - 95 °C bei 0.7 – 1.0 hPa).

1. Vorversuch: In einem 50 mL Zweihalskolben mit Tropftrichter und Trockenrohr wurden bei Raumtemperatur 1.91 g (10.0 mmol) 1,2-Dibrommethan langsam zu 25.4 g (0.17 mol) Tris-(2-aminoethyl)-amin (**13**) getropft. Die Zugabe des Halogenids erfolgte so, dass etwa alle 15 Minuten ca. 15 bis 20 Tropfen zu dem flüssigen Amin gegeben wurden. Schon zu Beginn der Zugabe fiel ein farbloser, feiner Niederschlag aus, wobei sich die Lösung geringfügig erwärmte. Nach der Zugabe des Bromids wurde das Reaktionsgemisch eine halbe Stunde bei Raumtemperatur gerührt. Unter kräftigem Rühren wurde die schwach gelb gefärbte Reaktionsmischung vorsichtig mit 100 mL einer 50 proz. Natriumhydroxidlösung versetzt. Danach wurde das Zweiphasengemisch in einen Scheidetrichter überführt, um die gelb gefärbte, organische Phase von der wässrigen, alkalischen Lösung zu trennen. Extraktionsversuche mit Methylenchlorid und Acetonitril waren zuvor fehlgeschlagen, denn das Öl konnte in keinem dieser Lösungsmittel

aufgenommen werden. Stets bildete sich eine zusätzliche dritte Phase aus. Zuletzt konnte das leicht bewegliche Öl abgetrennt und über Magnesiumsulfat getrocknet werden. Nach dem Entfernen des Trockenmittels wurde das überschüssige Amin **13** destillativ zurückgewonnen und der verbleibende Rückstand mehrere Stunden unter Vakuum (ca. 0.7 – 1.0 hPa) getrocknet. Als Rohprodukt wurde ein braun gefärbter Feststoff erhalten.

Ausbeute an Rohprodukt **3**: 4.79 g, 15.0 mmol, 147 % (Ausbeute bezogen auf reines Polyamin **3**).

Um feststellen zu können, ob es bei der Alkylierung tatsächlich zur Bildung von **3** gekommen war, folgten je eine ^1H -NMR- und ^{13}C -NMR-spektroskopische Untersuchung in D_2O . Das ^1H -NMR-Spektrum in D_2O zeigte ein Multiplett im Bereich zwischen $\delta = 2.60$ – 2.85 ppm, während das ^{13}C -NMR-Spektrum durch insgesamt fünf Signale bei $\delta = 40.85$, 48.64, 50.82, 56.14 und 59.04 gekennzeichnet war, eine Anzahl, die aufgrund der Symmetrie von **3** auch zu erwarten war.

2. Vorversuch: Der 2. Ansatz folgte in der Vorgehensweise dem Vorangegangenen. 2.46 g (13.0 mmol) der Dihalogenverbindung wurden über einen Tropftrichter langsam zu 26.0 g (17.8 mmol) Tris-(2-aminoethyl)-amin (**13**) gegeben. Die Aufarbeitung erfolgte auch hier mit 100 mL einer 50 proz. Natriumhydroxidlösung, so dass nach dem Entfernen des Lösungsmittels ein hellbraun gefärbter Rückstand verblieb, der mehrere Stunden unter Vakuum (ca. 0.7 – 1.0 hPa) getrocknet wurde

Ausbeute an Rohprodukt **3**: 4.01 g, 13.0 mol, 100 % (Ausbeute bezogen auf reines Polyamin **3**).

Als nächstes wurde der Rückstand vollständig in 50 mL Ethanol gelöst, und die klare Lösung im Anschluss daran mit 50 mL Diethylether versetzt. Dabei fiel ein feiner und farbloser Niederschlag aus, der nach dem Abtrennen über eine Glasfritte DII unter Vakuum (ca. 0.7 – 1.0 hPa) getrocknet werden konnte. Auswaage: 0.85 g. Da im ^1H -NMR-Spektrum keine Signale zu erkennen waren und die wässrige Lösung stark basisch war, handelte es sich bei dem Feststoff sehr wahrscheinlich um Natriumhydroxid. Zuletzt wurde das Lösungsmittelgemisch aus Diethylether und Ethanol wieder entfernt. Als

Rückstand verblieb auch hier ein braun gefärbter Feststoff, der ebenfalls unter Vakuum (ca. 0.7 – 1.0 hPa) getrocknet werden konnte.

Ausbeute an Rohprodukt **3**: 3.11 g, 10.0 mol, 75% (Ausbeute bezogen auf reines Polyamin **3**).

Die ^1H -NMR- und ^{13}C -NMR-Spektren in D_2O waren von der Anzahl der Signale her identisch mit denen aus dem ersten Ansatz. Daher wurde zur weiteren Charakterisierung ein ESI-Massenspektrum aufgenommen (12 μM in Wasser/Methanol 1:1/V:V).

MS (ESI, *positive ion mode*, Methanol): m/z = 147 [$\text{C}_6\text{H}_{18}\text{N}_4\text{--H}^+$], 319 [$\text{M}+\text{H}^+$], 341 [$\text{M}+\text{Na}^+$].

9.3.2 Isolierung und Charakterisierung von *N,N*-Bis-(2-amino-ethyl)-*N'*-(2-{2-[bis-(2-amino-ethyl)-amino]-ethylamino}-ethyl)-ethan-1,2-diamin (**3**) als Hydrochlorid-Salz

Polyamine werden zum großen Teil als Hydrochlorid-Salze isoliert, weil diese nicht nur als Feststoffe vorliegen, sondern in der Regel auch unempfindlicher gegenüber Luftsauerstoff und Feuchtigkeit sind. Um das entsprechende Hydrochlorid-Salz **3**·HCl zu gewinnen, wurden vorab drei weitere Alkylierungsversuche durchgeführt.

1. Ansatz: In einem 100 mL Zweihalskolben mit Tropftrichter und Trockenrohr wurden zunächst 31.9 g (0.22 mol) Tris-(2-aminoethyl)-amin (**13**) vorgelegt. Unter kräftigem Rühren wurden dann bei Raumtemperatur 6.30 g (34.0 mmol) Ethylendibromid langsam zugetropft. Ebenso wie in den vorangegangenen Ansätzen wurde auch hier eine sehr langsame Tropfgeschwindigkeit gewählt, so dass die Zugabe des Halogenids nach ca. 20 Stunden abgeschlossen war. Das farblose Reaktionsgemisch wurde eine Stunde auf 100 °C erwärmt, wobei die Farbe der Lösung nach gelborange umgeschlagen war. Nach dem Abkühlen auf Raumtemperatur wurde das Reaktionsgemisch zunächst mit 100 mL Wasser, dann mit 50 g Natriumhydroxid versetzt. Das Zweiphasengemisch wurde dann in einen Scheidetrichter überführt, so dass im Anschluss daran die organische Phase von der wässrigen getrennt werden konnte. Nach dem Trocknen über Natriumsulfat und Entfernen des überschüssigen Amins **13** verblieb auch hier ein braun gefärbter

Rückstand. Auswaage: 17.1 g. Der Rückstand wurde nicht weiter untersucht, sondern direkt nach dem Trocknen mit 50 mL Chloroform versetzt und etwa 20 Minuten im Ultraschallbad digeriert. Der farblose Niederschlag (5.47 g) konnte danach über eine Glasfritte (DIII) abgetrennt werden. Nachdem das Chloroform entfernt worden war, wurde als Rohprodukt ein orange gefärbtes Öl erhalten, dass nach wenigen Tagen zu einer gelartigen Masse erstarrte.

Ausbeute an Polyamin **3**: 10.2 g, 32.0 mol, 96 %.

Zwei weitere Ansätze wurden durchgeführt. Vorgehensweise und Aufarbeitung blieben dabei unverändert. Ebenso wie im vorangegangenen Ansatz wurde das Halogenid bei Raumtemperatur langsam zu Tris-(2-aminoethyl)-amin (**13**) gegeben. In beiden Fällen wurde das Polyamin **3** als braun gefärbtes Öl erhalten. Die untere Tabelle liefert eine Übersicht.

Tab. 30: Ansatzgrößen für zwei weitere Umsetzungen von **13** mit Ethylendibromid und Ausbeuten an *N,N*-Bis-(2-amino-ethyl)-*N'*-(2-{2-[bis-(2-amino-ethyl)-amino]-ethylamino}-ethyl)-ethan-1,2-diamin (**3**):

	2. Ansatz	3. Ansatz
Tris-(2-aminoethyl)-amin (13)	38.8 g, 0.27 mol	27.6 g, 0.19 mol
1,2-Dibromethan	8.27 g, 0.04 mol	5.90 g, 0.03 mol
Ausbeute an Polyamin 3 :	10.9 g, 0.03 mol	5.24 g, 0.02 mol
	78 %	53 %

Im Anschluss an die Alkylierungsreaktionen folgte die Isolierung von *N,N*-Bis-(2-amino-ethyl)-*N'*-(2-{2-[bis-(2-amino-ethyl)-amino]-ethylamino}-ethyl)-ethan-1,2-diamin (**3**) als Hydrochloridsalz **3**·8HCl. Zwei Methoden (**A** und **B**) wurden dabei angewendet.

Methode A: Fällung als Hydrochloridsalz **3**·8HCl in Ethanol/ konz. HCl (30:0.8 / V:V):

In einem Lösungsmittelgemisch aus 30 mL Ethanol und 0.8 mL konzentrierter Salzsäure (37 proz.) wurden unter Rühren 680 mg (2.13 mmol) des Polyamins **3** gegeben. Die

Suspension aus farblosem Niederschlag und schwach gelber Lösung wurde ca. 10 Minuten im Ultraschallbad gerührt, dann wurde der Niederschlag unter Schutzgas über eine Umkehrfritte (D III) abgetrennt und mit wenig Ethanol und Diethylether gewaschen. Nach dem Trocknen unter Vakuum (ca. 0.5 – 0.7 hPa) wurde das Hydrochloridsalz **3**·HCl als farbloser und pulverförmiger Feststoff erhalten. Ausbeute an **3**·HCl: 620 mg, 10.2 mmol, 47 %.

Elementaranalyse: $C_{14}H_{46}N_8Cl_8$ (610.3 g/mol)

ber.	C	27.55	H	7.61	N	18.36
gef.	C	31.35	H	8.50	N	18.70

Methode B: Fällung als Hydrochloridsalz **3**·HCl in Methanol/ konz. HCl (30:0.8 / V:V):

Zunächst wurde ein Lösungsmittelgemisch aus 60 mL Ethanol und 1.6 mL konzentrierter Salzsäure (37 proz.) vorgelegt. Unter Rühren wurden dann 720 mg (2.26 mmol) des Amins **3** zugesetzt. Das Reaktionsgemisch aus wenig farblosem Niederschlag und schwach gelber Lösung wurde ebenfalls 10 Minuten im Ultraschallbad gerührt, anschließend wurde der Niederschlag unter Schutzgas über eine Umkehrfritte (D III) abgetrennt und mit wenig Diethylether gewaschen. Nach dem Trocknen unter Vakuum (ca. 0.5 – 0.7 hPa) wurde das Hydrochloridsalz **3**·HCl auch hierbei als farbloser und pulverförmiger Feststoff erhalten. Ausbeute an **3**·HCl: 260 mg, 0.43 mmol, 19 %.

Elementaranalyse: $C_{14}H_{46}N_8Cl_8$ (610.3 g/mol)

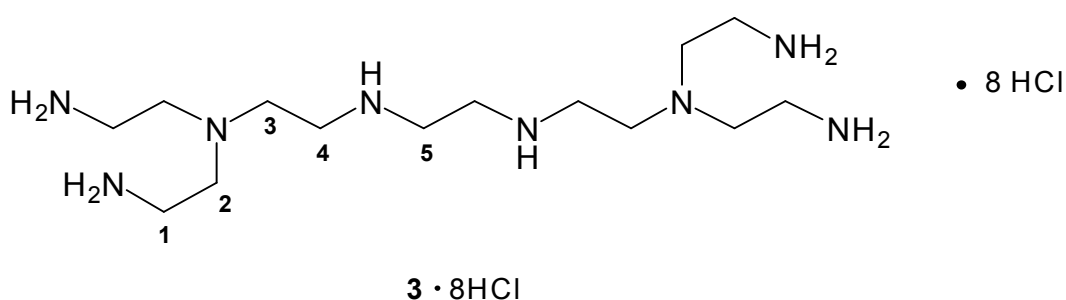
ber.	C	27.55	H	7.61	N	18.36
gef.	C	28.71	H	7.71	N	17.76

Nach dem Waschen mit Diethylether wies das Filtrat eine schwache Trübung auf, so dass die schwach gelbe Lösung mit zusätzlichen 100 mL Diethylether versetzt wurde. Ein farbloser, voluminöser Niederschlag fiel aus, der unter Schutzgas über eine Umkehrfritte (DIII) abgetrennt werden konnte und unter Vakuum (ca. 0.5 – 0.7 hPa) getrocknet wurde. Ausbeute an **3**·HCl: 440 mg, 0.72 mmol, 32 %.

Elementaranalyse: $C_{14}H_{46}N_8Cl_8$ (610.3 g/mol)

ber.	C	27.55	H	7.61	N	18.36
gef.	C	27.62	H	7.85	N	17.98

1H -NMR- und ^{13}C -NMR-spektroskopische Daten von **3** $\cdot 8HCl$:

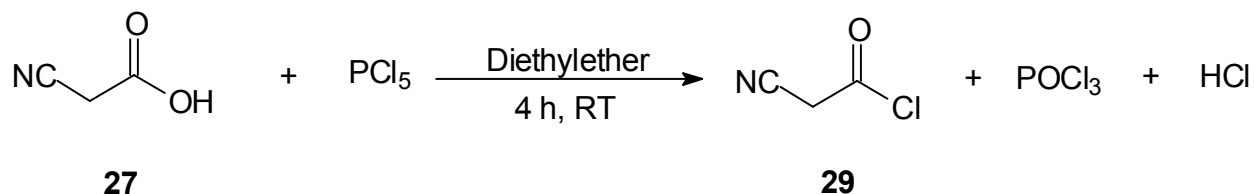


1H -NMR-spektroskopische Daten von **3** · 8HCl (D_2O , 500 MHz): δ [ppm] = 2.91 – 2.94 (m, 4H, H-1), 2.99 (t, $^3J = 6.6$ Hz, 2H, H-3), 3.17 – 3.21 (m, 4H, H-2), 3.35 (t, $^3J = 6.5$ Hz, 2H, H-4), 3.60 (s, 2H, H-5).

^{13}C -NMR-spektroskopische Daten von **3** · 8HCl (D_2O , 125 MHz): δ [ppm] = 36.52 (C-1), 43.55 (C-5), 45.30 (C-4), 49.00 (C-3), 49.92 (C-2)

9.4 Darstellung von Cyanessigsäurechlorid (**29**) und *N*-Trimethyl-2-cyanacetamid (**30**)

9.4.1 Synthese von Cyanessigsäurechlorid (**29**)^[75]



Zu einer eisgekühlten Lösung aus 25.5 g (0.30 mol) Cyanessigsäure (**27**) in 200 mL trockenem Diethylether wurden in kleinen Portionen 75.3 g (0.36 mol) Phosphorpentachlorid gegeben. Die gelb gefärbte Suspension wurde 4 Stunden bei Raumtemperatur gerührt, dabei ging der Feststoff nahezu vollständig in Lösung. Über eine Kondensationsbrücke wurden bei Raumtemperatur unter Vakuum (ca. 0.5 - 0.7 hPa) das Lösungsmittel und das gebildete Phosphoroxidchlorid entfernt. Anschließend erfolgte fraktionierende Destillation, wobei als Produktfraktion eine schwach gelbe Flüssigkeit erhalten wurde.

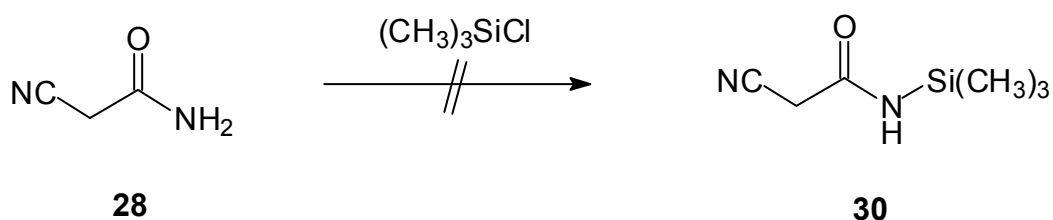
Ausbeute an Cyanessigsäurechlorid (**29**): 13.9 g, 0.13 mol (45%), (Lit.^[75] = 67%)

Siedebereich: 56-59 °C / 0.5-0.7 hPa (Lit.^[75]: 32-35 °C / 0.15 mm)

¹H-NMR-spektroskopische Daten von **29** (200 MHz, CDCl_3): δ [ppm] = 4.03 (s, 2H, CH_2).

¹³C-NMR-spektroskopische Daten von **29** (50 MHz, CDCl_3): δ [ppm] = 35.50 (CH_2), 111.27 (CN), 164.16 (C=O).

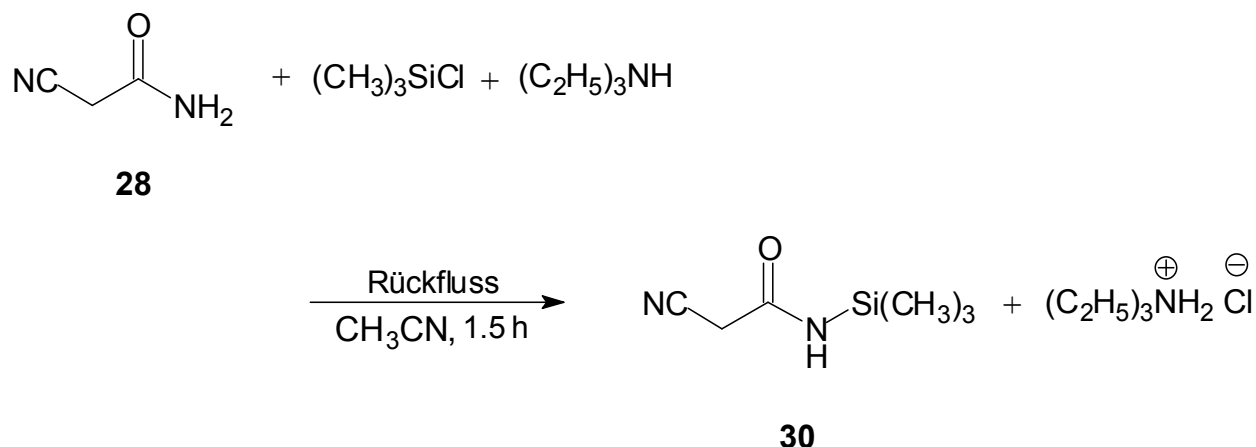
9.4.2 Versuche zur Synthese von *N*-Trimethylsilyl-2-cyanacetamid (**30**)



Reaktion in Dimethylformamid als Lösungsmittel: In einem 250 mL Dreihalskolben mit KPG-Rührer, Tropftrichter und Rückflußkühler wurden 4.90 g (58.3 mmol) Cyanacetamid (**11**) und 9.20 g (90.9 mmol) Triethylamin in 40 mL Dimethylformamid vorgelegt. Die klare Lösung wurde auf 100 °C erwärmt und 9.30 g (85.6 mmol) Trimethylchlorsilan über einen Tropftrichter langsam zugetropft (30 Minuten). Nachdem die Hälfte zugetropft worden war, fiel ein farbloser Niederschlag aus. Die Lösung war dunkelbraun gefärbt. Das Reaktionsgemisch wurde im Anschluß daran 90 Minuten bei 90°C gerührt. Nach dem Abkühlen wurde der farblose Niederschlag abgetrennt und insgesamt dreimal mit jeweils 10 mL Dimethylformamid gewaschen. Das Lösungsmittel wurde unter Vakuum (0.5 - 0.7 hPa) abdestilliert, wobei als Rückstand ein dunkelbrauner Feststoff erhalten wurde. Auswaage: 8.34 g.

Reaktion in Dioxan als Lösungsmittel: In einem 500 mL-Dreihalskolben mit KPG-Rührer, Tropftrichter und Rückflußkühler wurden 19.7 g (0.23 mol) Cyanacetamid (**1**) und 37.1 g (0.37 mol) Triethylamin in 285 mL Dioxan vorgelegt. Die Lösung wurde unter Rückfluß zum Sieden erhitzt und 50.7 g (0.47 mol) Trimethylchlorsilan wurden über einen Tropftrichter langsam zugetropft (90 Minuten). Nach dem die Hälfte zugetropft worden war, fiel auch hierbei ein farbloser Niederschlag aus. Die Lösung war wiederum braun gefärbt. Das Reaktionsgemisch wurde im Anschluß daran nochmals 1 Stunde zum Sieden erhitzt. Nach dem Abkühlen wurde der farblose Niederschlag abgetrennt und insgesamt fünfmal mit jeweils 20 mL Dioxan gewaschen. Das Lösungsmittel wurde abgezogen, wobei ein dunkelbrauner Feststoff erhalten wurde. Auswaage: 30.6 g.

Die Rückstände aus den Versuchen in Dimethylformamid und Dioxan wurden ^1H -NMR-spektroskopisch (200 MHz) untersucht. In beiden Fällen konnte das Sylylamid **30** aufgrund der Vielzahl an Signalen nicht identifiziert werden.



Reaktion in Acetonitril als Lösungsmittel: In einem 100 mL-Dreihalskolben mit KPG-Rührer, Tropftrichter und Rückflusskühler wurden 8.50 g (0.10 mol) Cyanacetamid (**2**) und 15.2 g (0.15 mol) Triethylamin in 120 mL Acetonitril vorgelegt. Die Lösung wurde unter Rückfluß zum Sieden erhitzt und 16.3 g (0.15 mol) Trimethylchlorsilan wurden über einen Tropftrichter langsam zugetropft. Während der Zugabe des Silylchlorids fiel kein Niederschlag aus, die Farbe der Lösung schlug jedoch nach champagnerfarben um. Das Reaktionsgemisch wurde im Anschluß daran noch 90 Minuten zum Sieden erhitzt. Nach dem Abkühlen auf Raumtemperatur fiel ein farbloser Niederschlag aus. Das Reaktionsgemisch wurde daraufhin auf 0 °C abgekühlt und der farblose Niederschlag über eine Umkehrfritte (DIIII) abgetrennt. Der Niederschlag wurde einmal mit 20 mL eisgekühlten Acetonitril gewaschen. Das Lösungsmittel wurde abgezogen und als Rohprodukt wurde ein champagner-farbenes, viskoses ÖL erhalten. Das ÖL erstarrte innerhalb einer Stunde bei Raumtemperatur.

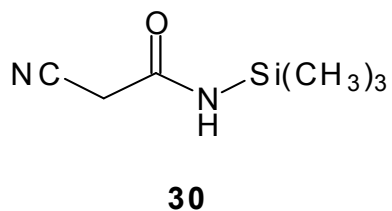
Ausbeute an Rohprodukt: 13.6 g, 87.0 mmol (87 %)

Der Feststoff konnte durch Sublimation gereinigt werden. Dazu wurden unter Vakuum (ca. 0.5 - 0.7 hPa) 7.47 g (47.8 mmol) des Rohproduktes bei 60 - 65 °C sublimiert. Das gereinigte Produkt ist farblos und fein kristallin.

Ausbeute an *N*-Trimethylsilyl-2-cyanacetamid (**30**): 7.37 g, 47.2 mmol (98%, Ausbeute bezogen auf eingesetztes Rohprodukt)

Schmp.: 122 - 124 °C.

^1H -NMR- und ^{13}C -NMR-spektroskopische Daten von *N*-Trimethylsilyl-2-cyanacetamid (**30**):



^1H -NMR-Spektrum (200 MHz, CD_3CN): δ [ppm] = 0.21 (s, 9H, CH_3), 3.47 (s, 2H, CH_2), 6.20 (*br s*, 1H, NH).

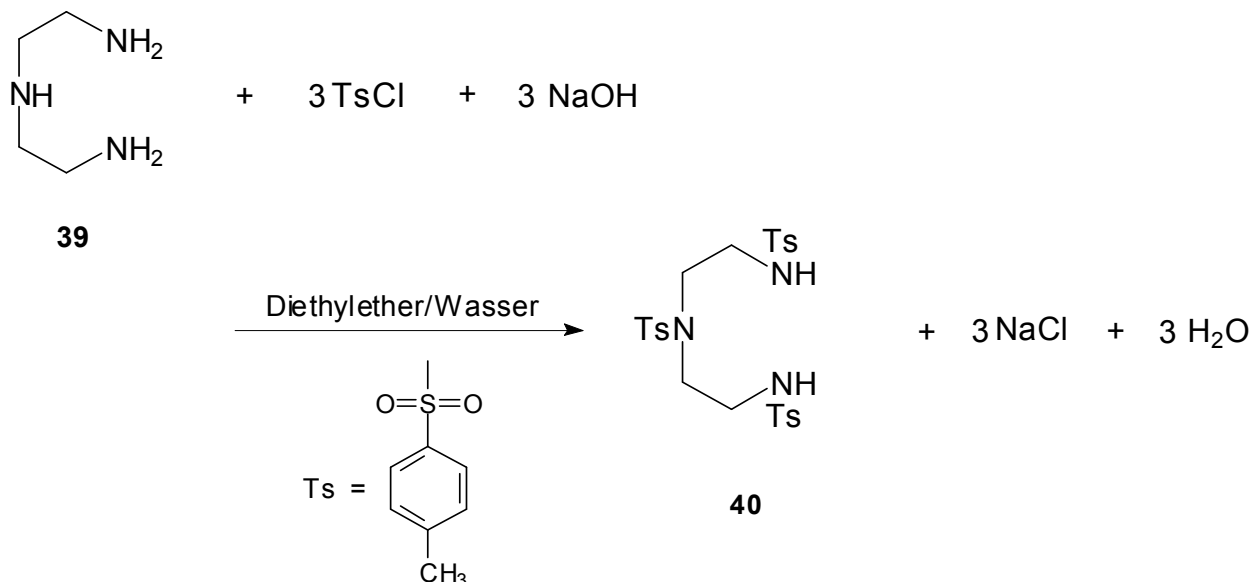
^{13}C -NMR-Spektrum (50 MHz, CD_3CN): δ [ppm] = 0.98 (CH_3), 27.53 (CH_2), 115.20 (CN), 166.51 ($\text{C}=\text{O}$).

Elementaranalyse: $\text{C}_6\text{H}_{12}\text{N}_2\text{OSi}$, Molmasse: 156.3 g/mol

ber.	C	46.10;	H	7.75;	N	17.93
gef.	C	46.19;	H	7.79;	N	18.26

9.5 Darstellung von Triazacyclononan (**26**)^[79]

9.5.1 Tosylierung I: Synthese von Diethylentriamin-*N,N',N''*-tritosylat (**40**)^[79]

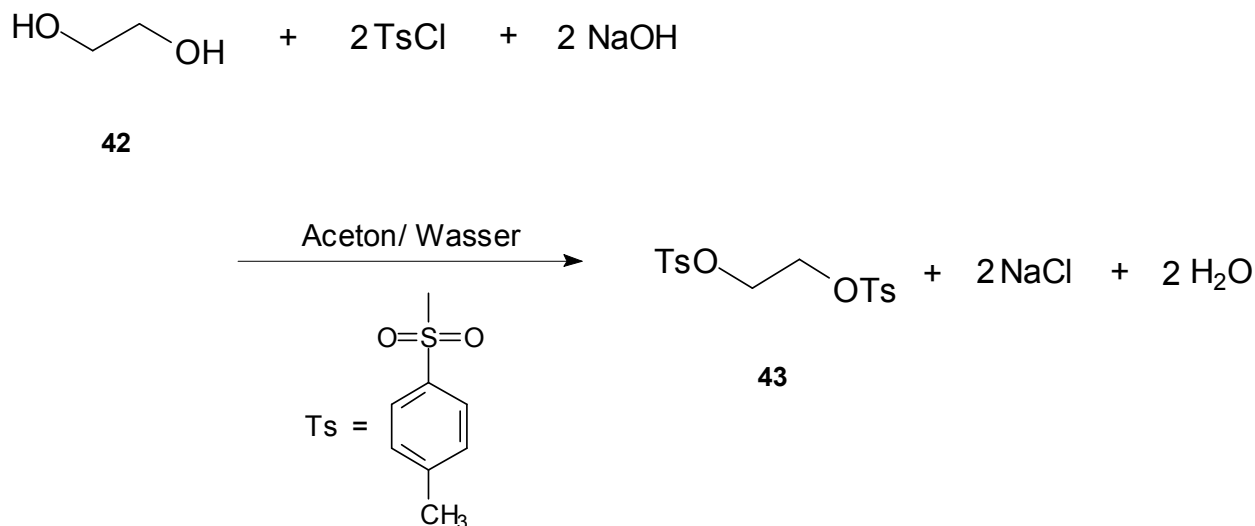


In einem 1000 mL Becherglas wurden 55.1 g (0.53 mol) Diethylentriamin (**39**) in 330 mL Wasser vorgelegt und unter Eiskühlung 64.3 g (1.61 mol) Natriumhydroxid zugegeben. Zu der auf 15 °C abgekühlten Lösung wurden dann 330 mL Diethylether gegeben, anschließend wurden 305 g (1.60 mol) *p*-Toluolsulfonsäurechlorid in kleinen Portionen so zugegeben, dass die Temperatur stets unterhalb 30 °C lag. Nach jeder Zugabe wurde das Reaktionsgemisch mit einem Eisbad auf etwa 15 °C abgekühlt, so dass das Tosylchlorid problemlos zum Reaktionsgemisch gegeben werden konnte. Nach beendeter Zugabe wurde der farblose Niederschlag zunächst über einen Büchnertrichter abgetrennt, dann fünfmal mit je 1000 mL Wasser und zweimal mit je 150 mL Aceton gewaschen und zuletzt über Nacht an der Luft getrocknet. Zur vollständigen Trocknung wurde das Tosylamid **40** mehrere Stunden unter Vakuum (ca. 0.7 – 1.0 hPa) bei etwa 60 – 70 °C über Phosphorpentoxid getrocknet. Als Produkt wurde schließlich ein farbloser Feststoff erhalten.

Ausbeute an Diethylentriamin - *N,N',N''* - tritosylat (**40**): 213 g, 0.38 mol (71 %; Lit.^[79]: 75 %)

IR (KBr) [cm^{-1}] = 3288 (s, $\nu(\text{NH})$), 3037 (w, $\nu(\text{CH}_{\text{arom.}}$)), 2916, 2856 (w, $\nu(\text{CH}_{\text{aliph.}}$)), 1593 (m, $\nu(\text{C}=\text{C})$), 1442 (m, $\delta(\text{CH}_{\text{aliph.}}$)), 1331 und 1159 (s, $\nu(\text{SO}_2\text{N})$), 813 (s, (1,4-Di-substitution)).

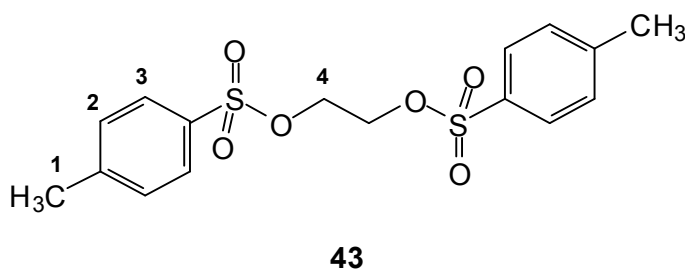
9.5.2 Tosylierung II: Synthese von Ethylenglykolditosylat (**43**)^[79]



Zu einer Lösung aus 49,1 g (0.79 mol) Ethylenglykol (**42**) und 306 g (1.61 mol) *p*-Toluolsulfonsäure in 330 mL Aceton wurde unter Eiskühlung und Rühren über einen Tropftrichter eine Lösung aus 64.3 g (1.61 mol) Natriumhydroxid in 170 mL Wasser gegeben. Die Zugabe der Lauge erfolgte so langsam, dass die Temperatur stets im Bereich zwischen 15 und 20 °C lag. Nach vollständiger Zugabe wurde das farblose Reaktionsgemisch eine weitere Stunde bei Raumtemperatur nachgerührt. Zur Aufarbeitung wurde der Feststoff zunächst über einen Büchnertrichter abgetrennt, zweimal mit 100 mL Aceton, dann dreimal mit 1000 mL Wasser gewaschen und über Nacht an der Luft getrocknet. Reste von Lösungsmittel konnten danach ebenfalls unter Vakuum (ca. 0.7 – 1.0 hPa) bei etwa 60 – 70 °C entfernt werden. Als Produkt wurde auch hier ein farbloser Feststoff erhalten.

Ausbeute an Ethylenglykolditosylat (**43**): 130 g, 0.35 mol (44 %; Lit.^[79]: 75 %)

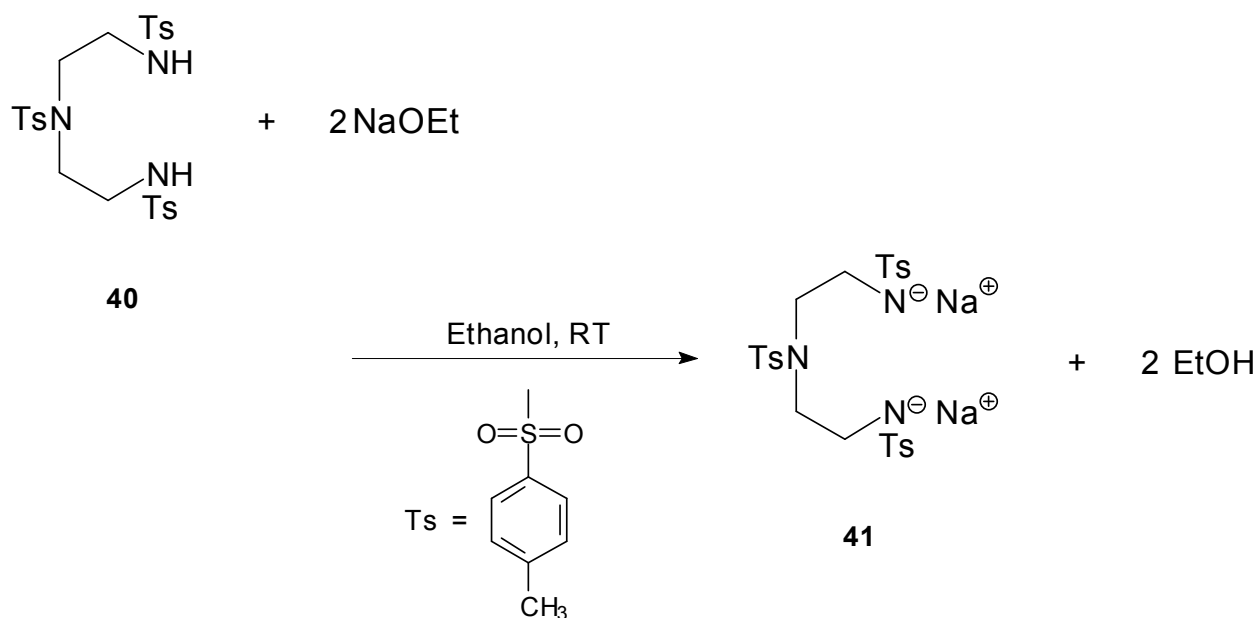
^1H -NMR-spektroskopische Daten von Ethylenglykolditosylat (**43**):



^1H -NMR-Spektrum (200 MHz, CDCl_3): δ [ppm] = 2.43 (s, 3H, H-1), 4.16 (s, 2H, H-4), 7.31 (d, $^3J = 8.0$ Hz, 2H, H-2), 7.70 (d, $^3J = 8.3$ Hz, 2H, H-3).

IR (KBr) [cm^{-1}] = 3097, 3046 (w, $\nu(\text{CH}_{\text{arom.}})$), 2986, 2956, 2926 (w, $\nu(\text{CH}_{\text{aliph.}})$), 1598 (m, $\nu(\text{C}=\text{C})$), 1361 und 1175 (s, $\nu(\text{SO}_2\text{N})$), 818 (m, (1,4-Disubstitution)).

9.5.3 Synthese von Dinatriumdiethylentriamin-*N,N',N''*-tritosylat (**41**)^[79]

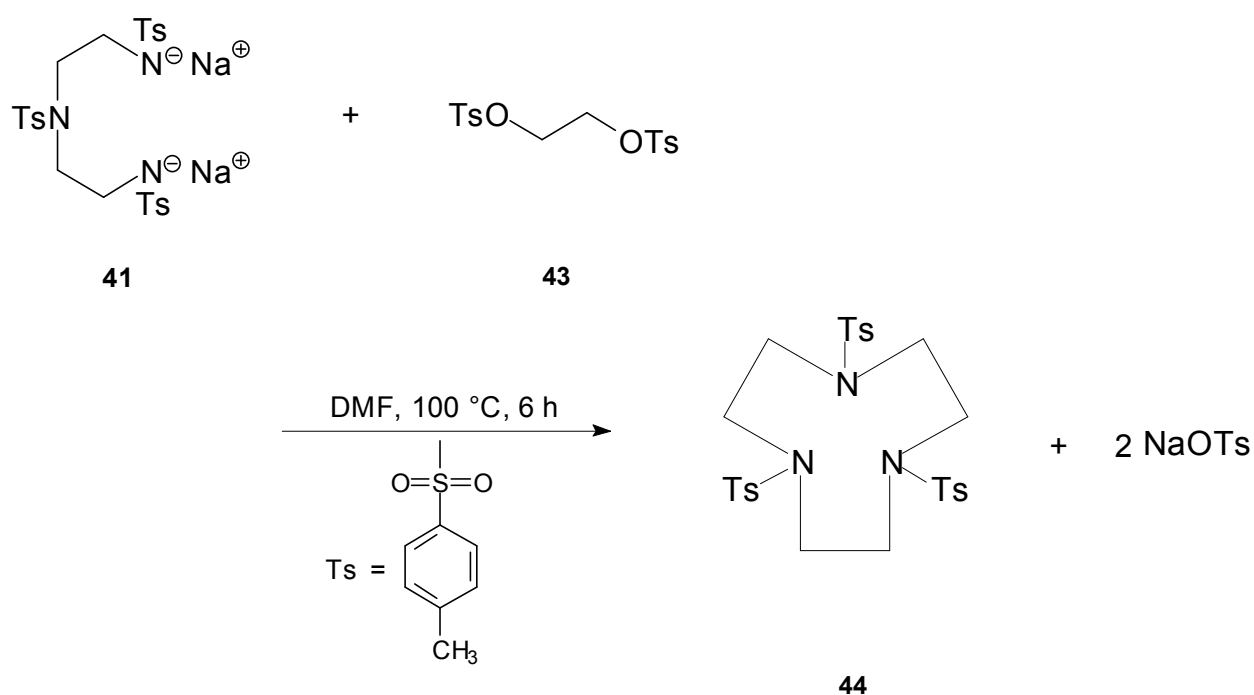


In einem 3000 mL Becherglas wurden unter Eiskühlung in kleinen Portionen 27.0 g (1.18 mol) Natrium zu 2000 mL Ethanol gegeben. Zu der auf 20 °C gekühlten Alkoholatlösung wurden als nächstes 328 g (0.58 mol) Diethylentriamin-*N,N',N''*-tritosylat (**40**), und zuletzt weitere 23.7 g (1.03 mol) Natrium gelöst. Nach beendeter Zugabe wurde das leicht

erwärmte (ca. 40 °C) und graugefärbte Reaktionsgemisch eine weitere Stunde bei Raumtemperatur nachgerührt. Danach wurde die Mischung mit zusätzlichen 500 mL Ethanol versetzt und mit Hilfe einer Eis/Kochsalzmischung auf 0 °C abgekühlt, so dass im Anschluss daran der voluminöse Niederschlag über einen Büchnertrichter abgetrennt werden konnte. Um Reste von Ethanol zu entfernen wurde der Feststoff mehrere Tage bei ca. 70 °C unter Vakuum (ca. 0.7 – 1.0 hPa) über Phosphorpentoxid getrocknet.

Ausbeute an Dinatriumdiethylentriamin-*N,N',N''*-tritosylat (**41**): 318 g, 0.52 mol (90 %; Lit.^[79]: 95 %)

9.5.4 Zyklisierung: Synthese von 1,4,7-Triazacyclononan-*N,N',N''*-tritosylat (**44**)

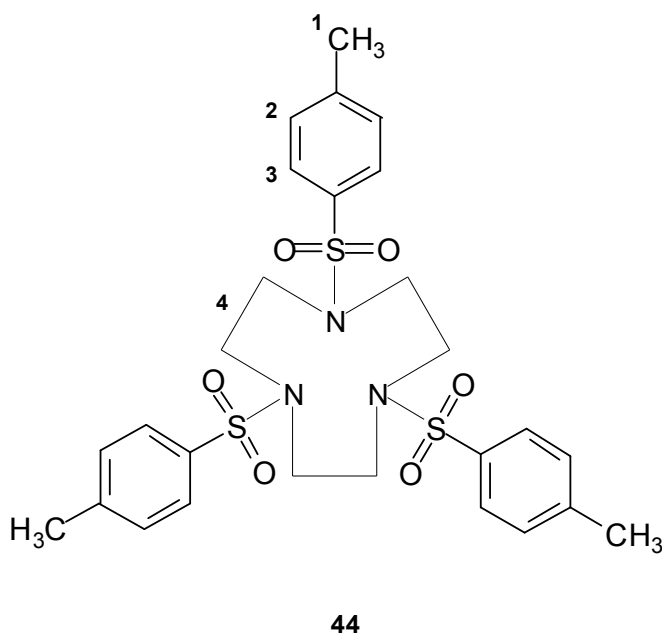


In einem 4000 mL Einhalskolben wurden zunächst 1.68 L Dimethylformamid (DMF) vorgelegt. Zu der auf 60 °C warmen Lösung wurden dann nacheinander 291 g (0.48 mol) Dinatriumdiethylentriamin-*N,N',N''*-tritosylat (**41**) und 180 g (0.49 mol) Ethyleneglykolditosylat (**43**) in kleinen Portionen zugegeben und das Reaktionsgemisch im Anschluss daran sechs Stunden bei 100 °C gerührt. Die gelbgefärbte Lösung wurde in einem dünnen Strahl unter starkem Rühren in 10 L Eiswasser gegossen, wobei ein farbloser Niederschlag ausfiel. Die Aufschlämmung wurde abgesaugt, nochmals in 2.5 L

heißem Wasser aufgeschlämmt und anschließend über einen Büchnertrichter abgetrennt. Um Lösungsmittelreste zu entfernen, wurde das Tritosylat **44** mehrere Stunden bei 120 °C unter Vakuum (ca. 0.7 – 1.0 hPa) über Phosphorpentoxid getrocknet. Danach wurde das Produkt in Form eines pulverförmigen und farblosen Feststoffes erhalten.

Ausbeute an 1,4,7-Triazacyclononan-*N,N,N'*-tritosylat (**44**): 252 g, 0.43 mol (89 %; Lit.^[79]: 90 %)

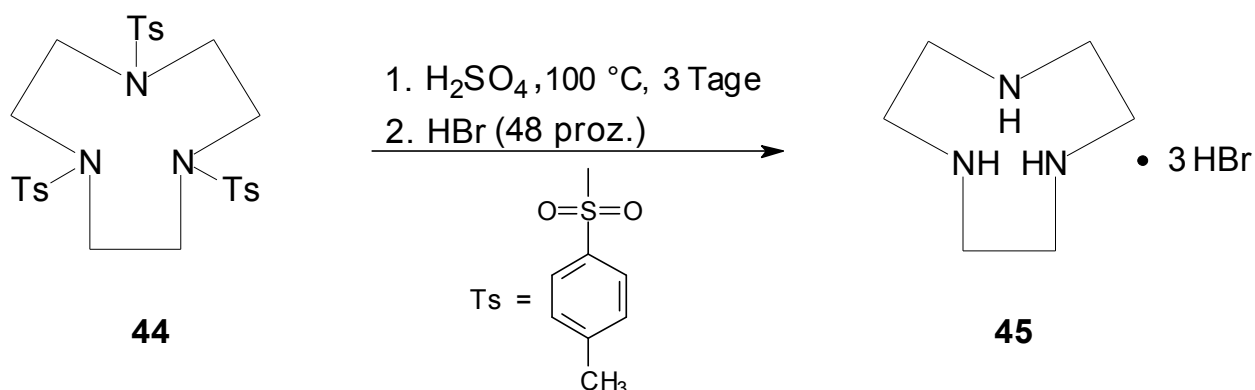
¹H-NMR-spektroskopische Daten von 1,4,7-Triazacyclononan-*N,N,N'*-tritosylat (**44**):



¹H-NMR-Spektrum (200 MHz, CDCl₃): δ [ppm] = 2.44 (s, 3H, H-1), 3.15 (s, 4H, H-4), 7.32 (d, ³J = 8.2 Hz, 2H, H-2), 7.72 (d, ³J = 8.4 Hz, 2H, H-3) .

IR (KBr) [cm⁻¹] = 3036 (w, ν(CH_{arom.})), 2926, 2866 (w, ν(CH_{aliph.})), 1593 (m, ν(C=C)), 1447 (m, δ(CH_{aliph.})), 1331 und 1160 (s, ν (SO₂N)), 813 (m, (1,4-Disubstitution)).

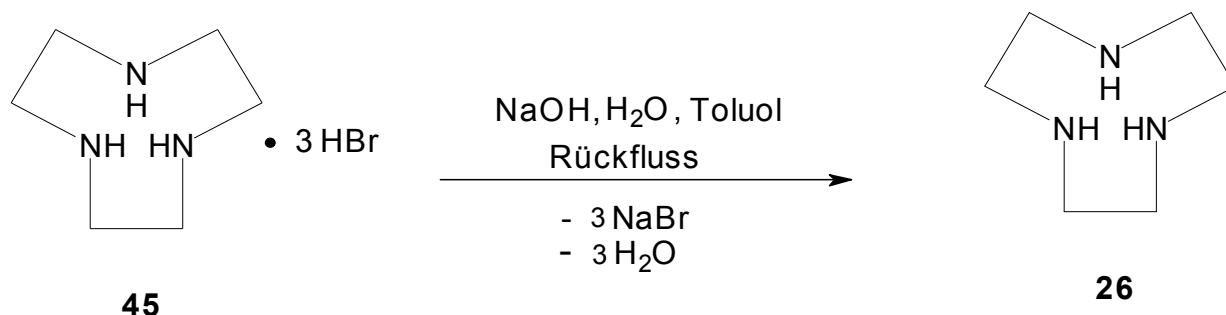
9.5.5 Detosylierung: Synthese von 1,4,7-Triazacyclononantrihydrobromid (**45**)^[79]



Eine Lösung aus 269 g (0.45 mol) 1,4,7-Triazacyclononan-*N,N,N'*-tritosylat (**44**) in 550 mL konzentrierter Schwefelsäure wurde vier Tage bei 100 °C gerührt. Die auf Raumtemperatur abgekühlte Lösung wurde danach in einen 500 mL Tropftrichter überführt und langsam zu 2.5 L einer eisgekühlten Ethanollösung getropft. Bereits nach Zugabe der ersten Tropfen fiel das Hydrogensulfat-Salz als hellbraun gefärbter Niederschlag aus, der nach beendeter Zugabe zu einer braungefärbten, zähen Masse verklumpt war. Der mit einem Messer zerkleinerte Klumpen wurde in 750 mL Bromwasserstoffsäure (48 proz.) digeriert und über Nacht bei Raumtemperatur gerührt. Das Hydrobromid-Salz **45** fiel dabei in Form eines graugefärbten Niederschlags an, der über eine Glasfritte (DIII) abgetrennt und zweimal mit 50 mL Diethylether gewaschen werden konnte. Nach dem Trocknen unter Vakuum bei 50 °C wurde der Zyklus **45** als hellgrauer Feststoff erhalten.

Ausbeute an 1,4,7-Triazacyclononantrihydrobromid (**45**): 99.0 g, 0.27 mol (59 %; Lit.^[69]: 80 %)

¹H-NMR-Spektrum (200 MHz, D₂O): δ [ppm] = 3.53 (s, 12H, 6 X CH₂).

9.5.6 Synthese von Triazacyclononan (26**)^[79]**

In einer Apparatur aus 500 mL Zweihalskolben, Wasserabscheider und Rückflusskühler wurden 4.25 g (0.11 mol) Natriumhydroxid und 13.3 g (0.04 mol) 1,4,7-Triazacyclononantrihydrobromid (**45**) in 20 mL Wasser vorgelegt. Nach Versetzen mit zusätzlichen 35 mL Toluol wurde das Reaktionsgemisch solange am Wasserabscheider zum Sieden erhitzt, bis alles Wasser vollständig abgeschieden war. Der grau gefärbte Niederschlag wurde von der noch warmen Lösung abgetrennt und die Lösung anschließend über Natriumsulfat getrocknet. Nach dem Entfernen des Lösungsmittels wurde das Rohprodukt **26** als stark viskose Flüssigkeit erhalten, die beim Abkühlen rasch zu einer wachsartigen Masse erstarrte.

Ausbeute an 1,4,7-Triazacyclononan (**26**): 2.84 g, 22.0 mol (61 %; Lit.^[79]: 85 %)

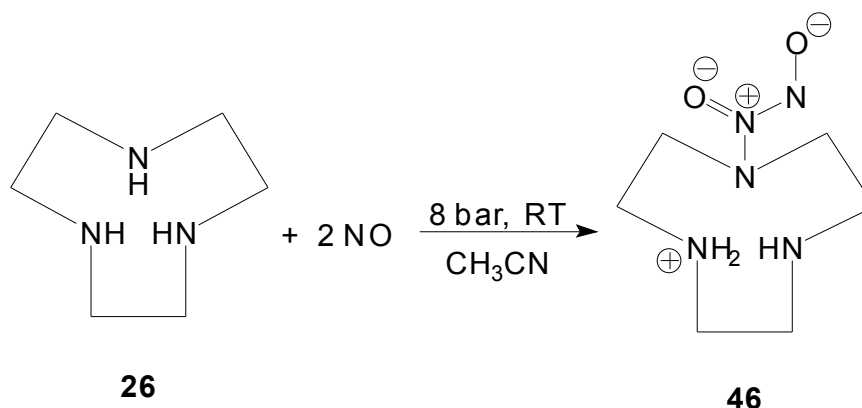
Zur weiteren Aufreinigung wurde das Rohprodukt im Ölpumpenvakuum unter Verwendung einer Kugelrohrapparatur fraktionierend destilliert.^[80] Das gewünschte Amin **26** konnte so bei einer Temperatur von 70 °C/ 1.0 hPa als farbloses Öl erhalten werden. Beim Abkühlen auf Raumtemperatur erstarrte das Produkt zu einem wachsartigen Feststoff. Da dieser sehr feuchtigkeitsempfindlich war, wurde das Triamin **26** unter Schutzgasatmosphäre aufbewahrt.

Ausbeute an 1,4,7-Triazacyclononan (**26**): 2.04 g, 16.0 mmol (44 %)

¹H-NMR-Spektrum (200 MHz, CDCl₃): δ [ppm] = 1.66 (s, 3H, NH), 2.65 (s, 12 H, 6 X CH₂).

¹³C-NMR-Spektrum (50 MHz, CDCl₃): δ [ppm] = 47.85 (6 X CH₂).

9.5.7 Umsetzung von Triazacyclononan (**26**) mit Stickstoffmonoxid (NO)



Die Umsetzung von Triazacyclononan (**26**) mit Stickstoffmonoxid erfolgte unter Druck bei Raumtemperatur in trockenem Acetonitril und Tetrahydrofuran als Lösungsmittel.

1. Ansatz: Eine Lösung aus 500 mg (3.87 mmol) Triazacyclononan (**26**) in 60 mL trockenem Acetonitril wurde in den Hochdruck-Autoklaven überführt, 15 Minuten mit Stickstoff gespült und mit Stickstoffmonoxid ($8.0 \cdot 10^5$ Pa) beschickt. Die farblose Lösung wurde 25 Stunden ohne weitere Zufuhr von NO bei Raumtemperatur gerührt. Nach dem Öffnen des Autoklaven wurde das Reaktionsgemisch in einen Stickstoffkolben überführt, und unter Eiskühlung und Schutzgas wurde der farblose Niederschlag über eine Umkehrfritte (D IV) von der farblosen Lösung getrennt. Der Feststoff wurde mit 1 mL trockenem Acetonitril gewaschen und mehrere Stunden unter Vakuum (ca. 0.7 – 1.0 hPa) getrocknet. Das Produkt wurde in Form eines farblosen, amorphen Feststoffes erhalten.

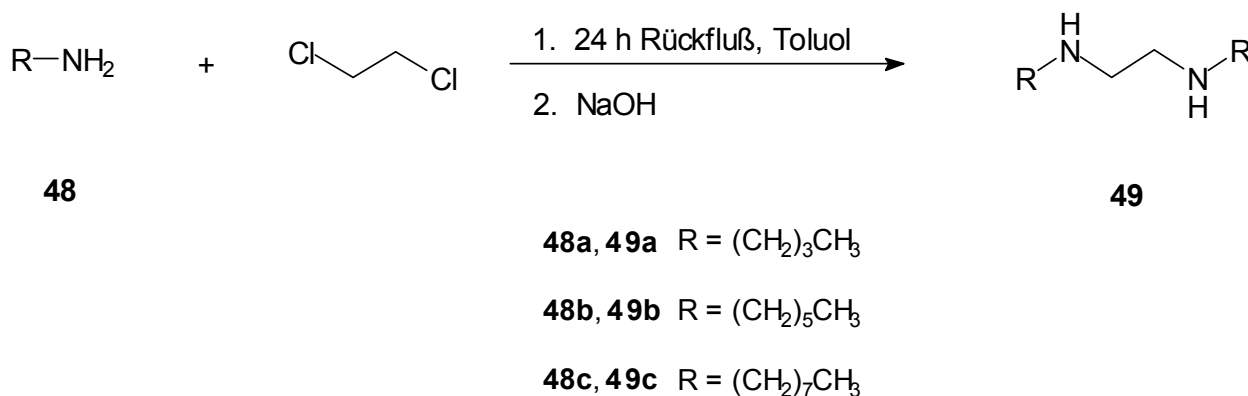
Ausbeute an 1,4,7-Triazacyclononan (**26**): 186 mg, 0.98 mmol (26 %)

2. Ansatz: Eine Lösung aus 790 mg (6.11 mmol) Triazacyclononan (**26**) in 60 mL trockenem Acetonitril wurde in den Hochdruck-Autoklaven gefüllt, 15 Minuten mit Stickstoff gespült und mit Stickstoffmonoxid bei 8 bar beschickt. Die Lösung wurde 24 Stunden ohne weitere Zufuhr von NO bei Raumtemperatur gerührt. Nach dem Öffnen des Autoklaven entwich Stickstoffmonoxid. Anstelle eines Niederschlages konnte nur eine schwach gelb gefärbte Lösung entnommen werden.

3. Ansatz: In 50 mL trockenem Tetrahydrofuran wurden 390 mg (3.02 mmol) Triazacyclononan (**26**) vorgelegt, und nach dem Überführen in den Hochdruck-Autoklaven wurde das Reaktionsgemisch ebenfalls eine viertel Stunde mit Stickstoff gespült und anschließend mit Stickstoffmonoxid bei 8.1 bar beschickt. Ohne weitere Zufuhr von NO wurde 23 Stunden bei Raumtemperatur nachgerührt. Auch hier konnte nach dem Öffnen des Autoklaven kein Niederschlag isoliert werden. Aus der gelb gefärbten Lösung entwich Stickstoffmonoxid. Die Blasenentwicklung ließ rasch nach, so dass nach wenigen Minuten überhaupt kein Gas mehr aus der Lösung entwich.

10 Darstellung und Charakterisierung der hydrophoben Amine und *N*-Diazeniumdiolate (NONOate)^[84]

10.1 Darstellung von *N,N'*-Di-*n*-butyl- (49a), *N,N'*-Di-*n*-hexyl- (49b) und *N,N'*-Di-*n*-octylethylendiamin (49c)^[84]

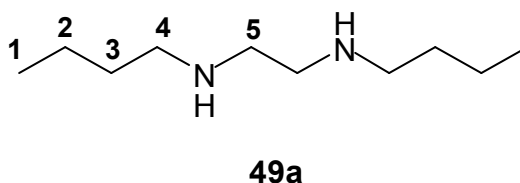


Synthese von *N,N'*-Di-*n*-butylethylendiamin (49a): In einem 500 mL Zweihalskolben mit Topftrichter, Rückflußkühler und Trockenrohr wurde zu 48.6 g (0.60 mol) *n*-Butylamin (**48a**) in 200 mL Toluol innerhalb von 20 Minuten bei etwa 80 °C tropfenweise 11.8 g (0.12 mol) 1,2-Dichlorethan gegeben. Nach der Zugabe wurde der Tropftrichter entfernt und das zunächst farblose Reaktionsgemisch 24 Stunden auf 120 °C (Rückfluß) erwärmt. Nach dem Abkühlen wurde die gelbe Lösung 2 mal mit je 30 mL 40 proz. Natriumhydroxidlösung und anschließend einmal mit 30 mL Wasser gewaschen. Die organische Phase wurde über Magnesiumsulfat getrocknet. Überschüssiges *n*-Butylamin (**48a**) sowie das Lösungsmittel wurden im Anschluß daran bei Normaldruck abdestilliert. Zuletzt erfolgte die fraktionierende Destillation, wobei als Produktfraktion ein farbloses Öl erhalten wurde.

Ausbeute an *N,N'*-Di-*n*-butylethylendiamin (**49a**): 10.2 g, 60.0 mmol (46%), (Lit.^[84] = 86%)

Siedebereich: 80 - 82 °C / 0.7 - 1.0 hPa (Lit.^[84]: 66 °C / 0.9 mm)

^1H -NMR- und ^{13}C -NMR-spektroskopische Daten von *N,N'*-Di-*n*-butylethylendiamin (**49a**):



^1H -NMR-Spektrum (CDCl_3 , 200 MHz): δ [ppm] = 0.79 (t, $^3J=7.2$ Hz, 6H, H-1), 1.03 (s, br, 2H, NH), 1.20-1.34 (m, 8H, H-2, H-3), 2.48 (t, $^3J=7.0$ Hz, 4H, H-4), 2.59 (s, 4H, H-5).

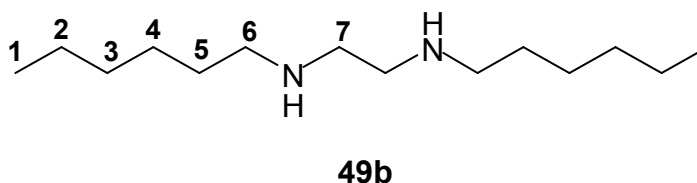
^{13}C -NMR-Spektrum (CDCl_3 , 50 MHz): δ [ppm] = 13.88 (C-1), 20.42 (C-2), 32.35 (C-3), 49.61 (C-4), 49.68 (C-5).

Synthese von *N,N'*-Di-*n*-hexylethylendiamin (49b**):** Eine Lösung aus 62.6 g (0.62 mol) *n*-Hexylamin (**48b**) in 200 mL Toluol wurde innerhalb einer viertel Stunde bei 80°C tropfenweise mit 12.7 g (0.13 mol) 1,2-Dichlorethan versetzt. Das farblose Reaktionsgemisch wurde daraufhin 24 Stunden unter Rückfluß zum Sieden erhitzt. Nach dem Abkühlen der gelben Reaktionsmischung wurde einmal mit je 30 mL 40%iger Natriumhydroxidlösung und 30 mL Wasser gewaschen. Die trübe organische Phase wurde dann etwa 1 Stunde über Magnesium-sulfat/Natriumhydroxid im Verhältnis 1:1 gerührt. Das Trockenmittelgemisch konnte danach über eine Glasfritte (DIII) abgetrennt werden. Die organische Phase war klar und gelb gefärbt. Überschüssiges *n*-Hexylamin sowie das Lösungsmittel wurden zunächst bei Normaldruck abdestilliert, anschließend folgte eine fraktionierende Destillation, wobei als Produkt ein schwach gelbes Öl erhalten wurde.

Ausbeute an *N,N'*-Di-*n*-hexylethylendiamin (**49b**): 14.0 g, 61.5 mmol (48%),

Siedebereich: 109 - 113 °C/ 0.7 - 1.0 hPa

^1H -NMR- und ^{13}C -NMR-spektroskopische Daten von *N,N'*-Di-*n*-hexylethylendiamin (**49b**):



^1H -NMR-Spektrum (CDCl_3 , 200 MHz): δ [ppm] = 0.77 (t, 3J = 6.7 Hz, 6H, H-1), 1.15-1.40 (m, 16H, H-2, H-3, H-4, H-5), 2.48 (t, 3J = 7.2 Hz, 4H, H-6), 2.59 (s, 4H, H-7).

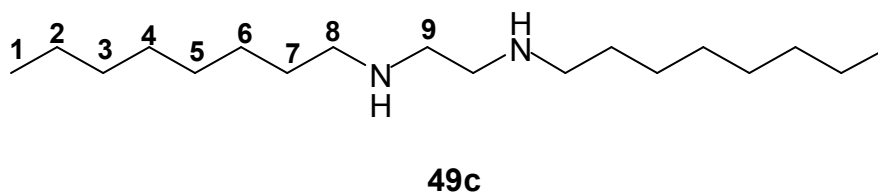
^{13}C -NMR-Spektrum (CDCl_3 , 50 MHz): δ [ppm] = 13.91 (C-1), 22.57 (C-2), 27.01 (C-3), 30.17 (C-4), 31.76 (C-5), 49.61 (C-6), 50.04 (C-7).

Synthese von *N,N'*-Di-*n*-octylethylendiamin (49c**):** Zu einer Lösung aus 77.3 g (0.59 mol) *n*-Octylamin (**48c**) in 200 mL Toluol wurde über einen Tropftrichter innerhalb einer viertel Stunde bei 80°C 12.7 g (0.13 mol) 1,2-Dichlorethan gegeben. Insgesamt 22 Stunden wurde die Reaktionslösung bei etwa 120 °C unter Rückfluß zum Sieden erhitzt. Die gelbe Lösung wurde dann nach dem Abkühlen einmal mit 40 mL 40%iger Natriumhydroxidlösung und einmal mit 30 mL Wasser gewaschen. Die trübe organische Phase wurde etwa 1 Stunde über Magnesiumsulfat/Natriumhydroxid im Verhältnis 1:1 gerührt, und über eine Glasfritte (DIII) konnte das Trockenmittel im Anschluß daran abgetrennt werden. Die organische Phase war auch hier klar und gelb gefärbt. Das Lösungsmittel und überschüssiges *n*-Octylamin (**48c**) wurden bei Normaldruck abdestilliert. Dann folgte eine fraktionierende Destillation, bei der als Produkt ein schwach gelbes Öl erhalten wurde.

Ausbeute an *N,N'*-Di-*n*-octylethylendiamin (**49c**): 14.6 g, 51.7 mmol (40%)

Siedebereich: 137 - 138 °C/ 0.7 - 1.0 hPa

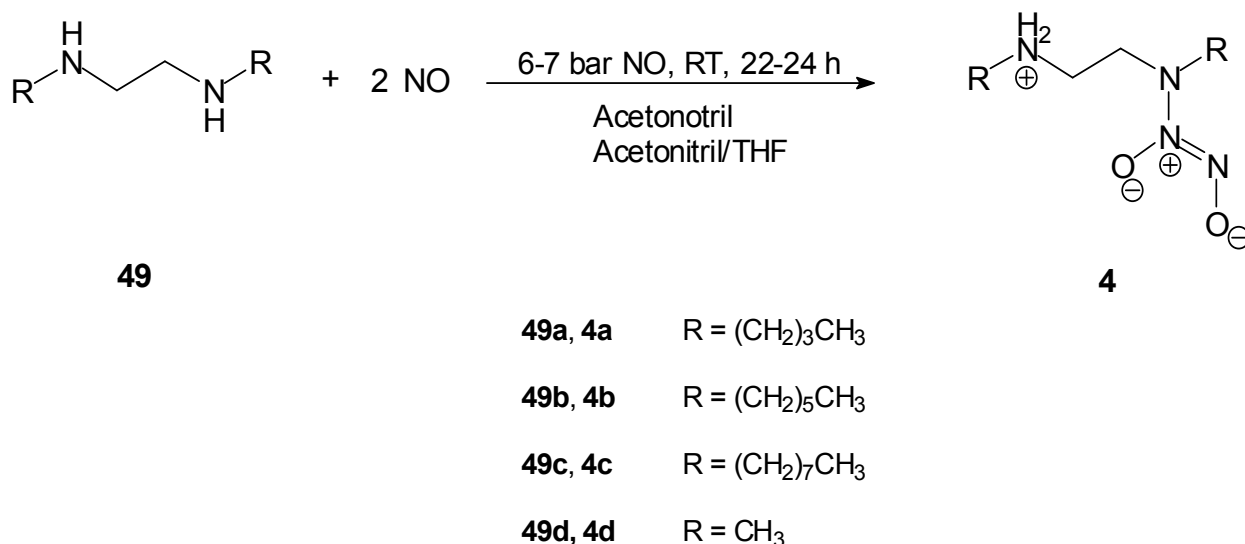
^1H -NMR- und ^{13}C -NMR-spektroskopische Daten von *N,N'*-Di-*n*-octylethylendiamin (**49c**):



^1H -NMR-Spektrum (CDCl_3 , 200 MHz): δ [ppm] = 0.79 (t, $^3J = 6.8$ Hz, 6H, H-1), 1.10-1.50 (m, 24H, H-2, H-3, H-4, H-5, H-6, H-7), 2.51 (t, $^3J = 7.2$ Hz, 4H, H-8), 2.63 (s, 4H, H-9).

^{13}C -NMR-Spektrum (CDCl_3 , 50 MHz): δ [ppm] = 13.99 (C-1), 22.61 (C-2), 27.37 (C-3), 29.26 (C-4), 29.52 (C-5), 30.25 (C-6), 31.62 (C-7), 49.68 (C-8), 50.08 (C-9).

10.2 Umsetzung von *N,N'*-Dimethylethyldiamin (**49d**), *N,N'*-Di-*n*-butylethyldiamin (**49a**), *N,N'*-Di-*n*-hexylethyldiamin (**49b**), *N,N'*-Di-*n*-octylethyldiamin (**49c**) mit Stickstoffmonoxid (NO)

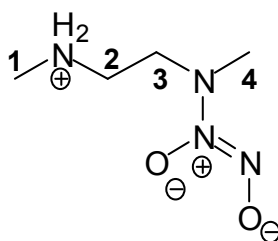


Darstellung von *N,N'*-Dimethylethyldiamin-NONOat (4d**):**^[33] In 75 mL trockenem Acetonitril wurden unter Schutzgas 4.14 g (15.2 mmol) *N,N'*-Dimethylethyldiamin (**49d**) gelöst. Die Lösung wurde in den Autoklav überführt, 10 Minuten mit Stickstoff gespült und mit Stickstoffmonoxid bei 6.2 bar beschickt. Das Reaktionsgemisch wurde bei Raumtemperatur über Nacht gerührt, ohne das NO ein weiteres Mal zugegeben wurde. Nach 22 Stunden wurde die Reaktion bei einem NO-Druck von 3.5 bar abgebrochen. Das Reaktionsgemisch wurde nach dem Öffnen des Autoklaven zunächst in einen Stickstoffkolben überführt und unter Eiskühlung gelagert. Der farblose Niederschlag wurde unter Schutzgas über eine Umkehrfritte (DIII) von der ebenfalls farblosen Lösung abgetrennt. Das Rohprodukt wurde 2 mal mit je 10 mL Acetonitril gewaschen und unter Vakuum (0.7 - 1.0 hPa) getrocknet.

Ausbeute an *N,N'*-Dimethylethyldiamin-NONOat (**4d**): 1.03 g, 7.00 mmol (15%; Lit.^[33]= 46 %)

Schmp.: 116 °C (Zers.); Lit.^[33]= 116-117 °C (Zers.)

^1H -NMR-, ^{13}C -NMR- und ^{15}N -NMR-spektroskopische Daten von *N,N'*-Dimethylethylen-diamin-NONOat (**4d**):



4d

^1H -NMR-Spektrum (2 M NaOD in D_2O , 500 MHz): δ [ppm] = 2.69 (s, 3H, H-1), 2.29 (t, $^3J=6.3$ Hz, 2H, H-2), 2.55 (s, 3H, H-4), 2.84 (t, $^3J=6.3$ Hz, 2H, H-3).

^{13}C -NMR-Spektrum (2 M NaOD in D_2O , 125 MHz): δ [ppm] = 37.16 (C-1), 44.85 (C-2), 49.49 (C-4), 56.13 (C-3).

^{15}N -NMR - spektroskopische Daten (2 M NaOD in D_2O ; 50 MHz): δ [ppm] = -360.1 (NH), -264.5 (N-NONO), -65.4 (NONO), 38.4 (NONO).

IR (KBr) [cm^{-1}] = 3012 $\nu(\text{NH})$, 2968, 2880 $\nu(\text{CH})$, 2750, 2434, 2384 $\nu(\text{NH}_2^+)$, 1382 (ν_{sy} (NONO), ν_{as} (NONO), δ (NONO)), 1152 $\nu(\text{NO})$, 965 $\nu_{\text{sy, in-plane}}$ (NONO).

UV (1.01 mM in 0.01 M NaOH): λ_{max} (lg ϵ) = 249 nm (3.87)

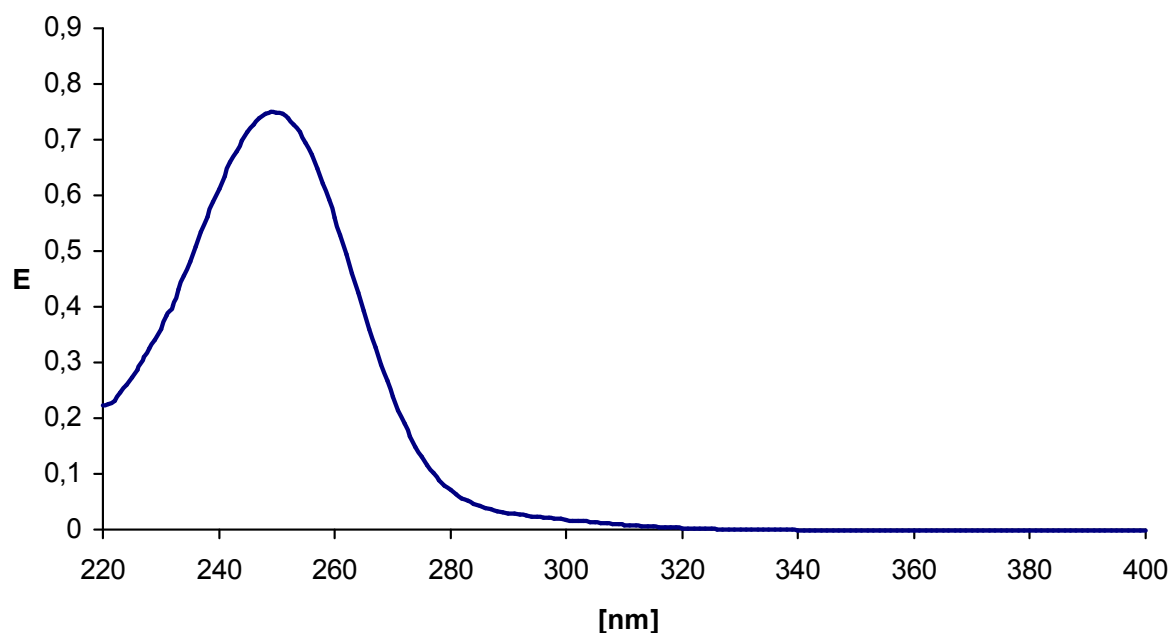


Abb. 65: UV-Spektrum von *N,N'*-Dimethylethylendiamin-NONOat (**4d**, 1.01 mM in 0.01 M NaOH): $\lambda_{\text{max.}}$ ($\lg \varepsilon$) = 249 nm (3.87).

Darstellung von *N,N'*-Di-*n*-butylethylendiamin-NONOat (4a**):** Eine Lösung aus 4.60 g (26.7 mmol) *N,N'*-Di-*n*-butylethylendiamin (**49a**) in 70 mL trockenem Acetonitril wurden in den Hochdruck-Autoklaven gefüllt, 10 Minuten mit Stickstoff gespült und mit Stickstoffmonoxid (5.8 bar) beschickt. Die Lösung wurde insgesamt 25 Stunden ohne weitere Zufuhr von Stickstoffmonoxid bei Raumtemperatur gerührt. Nach dem Öffnen des Autoklaven wurde das Reaktionsgemisch in einen Stickstoffkolben überführt, und unter Eiskühlung und Schutzgas wurde der farblose Niederschlag über eine Umkehrfritte (DIII) von der schwach gelben Lösung abgetrennt. Das Rohprodukt wurde mit 10 mL Acetonitril gewaschen und unter Vakuum (0.7 - 1.0 hPa) getrocknet.

Ausbeute an *N,N'*-Di-*n*-butylethylendiamin-NONOat (**4a**): 1.02 g, 4.40 mmol (16%)

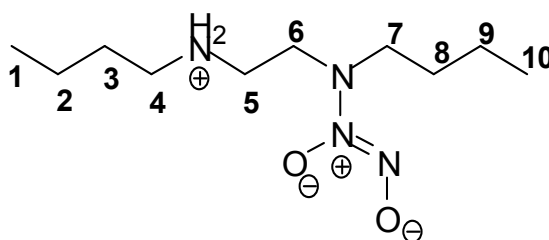
2. Ansatz: In einen weiteren Ansatz wurde eine vergleichbare Menge Ausgangsamin verwendet. Eine Lösung aus 4.46 g (0.026 mol) *N,N'*-Di-*n*-butylethylendiamin (**49a**) in 70 mL trockenem Acetonitril wurden in den Hochdruck-Autoklaven gefüllt, 10 Minuten mit Stickstoff gespült und mit Stickstoffmonoxid ($6.0 \cdot 10^5$ Pa) beschickt. Die farblose Lösung wurde insgesamt 24 Stunden ohne weitere Zufuhr von NO bei Raumtemperatur gerührt. Die Aufarbeitung erfolgte zunächst in der gleichen Weise wie beim ersten Ansatz. Zur

Reinigung wurde das Rohprodukt dann der Reihe nach mit wenig NaOH-Lösung (0.01 M), Wasser, Methanol und THF gewaschen. Nach dem Trocknen unter Vakuum (0.7 - 1.0 hPa) wurde das NONOat **4a** in Form eines farblosen Feststoffes erhalten.

Ausbeute an *N,N'*-Di-*n*-butylethyldiamin-NONOat (**4a**): 1.19 g, 5.10 mmol (20%)

Schmp.: 117-118 °C (Zers.)

¹H-NMR-, ¹³C-NMR- und ¹⁵N-NMR-spektroskopische Daten von *N,N'*-Di-*n*-butylethyldiamin-NONOat (**4a**):



4a

¹H-NMR-Spektrum (2 M NaOD in D₂O, 500 MHz): δ [ppm] = 0.61 (t, ³J=9.5 Hz, 3H, H-1), 0.62 (t, ³J=7.2 Hz, 3H, H-10), 1.01-1.11 (m, 6H, H-2, H-3, H-9), 1.17 (quint., ³J=7.6 Hz, H-8), 2.24 (t, ³J=7.4 Hz, 2H, H-4), 2.26 (t, ³J=6.2 Hz, 2H, H-5), 2.63 (t, ³J=6.6 Hz, 2H, H-7), 2.73 (t, ³J=6.0 Hz, 2H, H-6).

¹³C-NMR-Spektrum (2 M NaOD in D₂O, 125 MHz): δ [ppm] = 16.02 (C-1), 16.16 (C-10), 22.26 (C-2), 22.72 (C-9), 31.04 (C-3), 33.79 (C-8), 47.57 (C-5), 50.27 (C-4), 54.71 (C-6), 55.81 (C-7).

¹⁵N-NMR - spektroskopische Daten (2 M NaOD in D₂O; 50 MHz): δ [ppm] = -347.3 (NH), -255.4 (N-NONO), -67.5 (NONO), 43.4 (NONO).

IR (KBr) [cm⁻¹] = 3427 ν (NH), 2956, 2933, 2873 ν (CH), 2736, 2690, 2391, 2302 ν (NH₂⁺), 1389 (ν_{sy} (NONO), ν_{as} (NONO), δ (NONO)), 1150 ν (NO), 941 $\nu_{sy, in-plane}$ (NONO).

Elementaranalyse: $C_{10}H_{24}N_4O_2$, Molmasse: 232.4 g/mol

ber.	C	51.68;	H	10.43;	N	24.12
gef.	C	51.73;	H	10.13;	N	23.92

UV (1.21 mM in 0.1 M NaOH): $\lambda_{\max}(\lg \epsilon) = 249 \text{ nm} (3.83)$

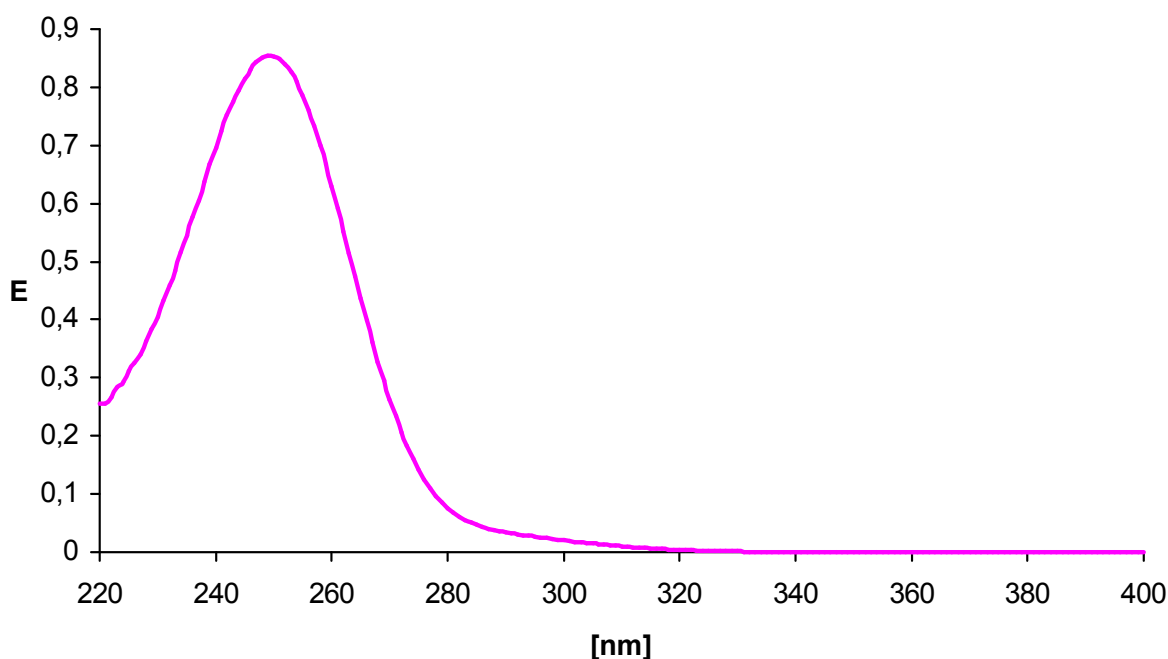


Abb. 66: UV-Spektrum von *N,N'*-Di-*n*-butylethylendiamin-NONOat (**4a**, 1.21 mM in 0.1 M NaOH): $\lambda_{\max}(\lg \epsilon) = 249 \text{ nm} (3.85)$.

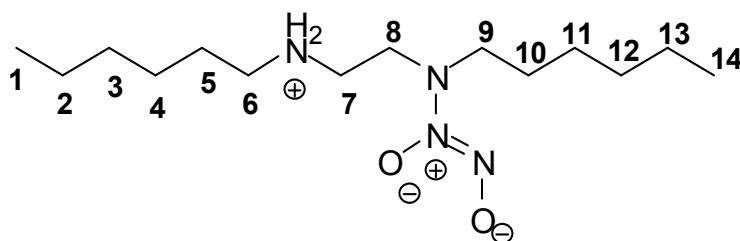
Darstellung von *N,N'*-Di-*n*-hexylethylendiamin-NONOat (4b**):** Der Autoklav wurde zunächst mit einer Lösung aus 3.74 g (16.4 mmol) *N,N'*-Di-*n*-hexylethylendiamin (**49b**) in 70 mL trockenem Acetonitril befüllt, 10 Minuten mit Stickstoff gespült und mit Stickstoffmonoxid (7.2 bar) beschickt. Ohne weitere Zufuhr von Stickstoffmonoxid wurde das Reaktionsgemisch insgesamt 23 Stunden bei Raumtemperatur gerührt. Der Druck war bei Abbruch der Reaktion auf 4.2 bar gesunken. Nach dem Öffnen des Autoklaven wurde das Reaktionsgemisch bestehend aus farblosem Feststoff und schwach gelber Lösung in einen Stickstoffkolben überführt, und unter Eiskühlung und Schutzgas wurde der farblose Niederschlag über eine Umkehrfritte (DIII) von der schwach gelben Lösung abgetrennt. Das Rohprodukt wurde ebenfalls der Reihe nach mit wenig 0.1 M NaOH-

Lösung, Wasser, Methanol und THF gewaschen. Nach dem Trocknen unter Vakuum (0.7 - 1.0 hPa) wurde **4b** ebenfalls als farbloser Feststoff erhalten.

Ausbeute an *N,N'*-Di-*n*-hexylethylendiamin-NONOat (**4b**): 2.42 g, 83.9 mmol (51%)

Schmp.: 118-120 °C (Zers.)

^1H -NMR-, ^{13}C -NMR- und ^{15}N -NMR-spektroskopische Daten von *N,N'*-Di-*n*-hexylethylendiamin-NONOat (**4b**):



4b

^1H -NMR-Spektrum (2 M NaOD in CD_3OD , 500 MHz): δ [ppm] = 0.84 (t, $^3J=7.3$ Hz, 3H, H-1), 0.87 (t, $^3J=6.6$ Hz, 3H, H-14), 1.25-1.36 (m, 14H, H-2, H-3, H-4, H-5, H-11, H-12, H-13), 1.46 (quint., $^3J=6.8$ Hz, 2H, H-10), 2.47-2.55 (m, 4H, H-6, H-7), 2.89 (t, $^3J=6.9$ Hz, 2H, H-9), 3.03 (t, $^3J=5.6$ Hz, 2H, H-8).

^{13}C -NMR-Spektrum (2 M NaOD in CD_3OD , 125 MHz): δ [ppm] = 14.57 (2C, C-1, C-14), 23.69 (2C, C-2, C-13), 27.84, 27.94, 28.19 (3C, C-4, C-10, C-11), 30.65 (C-5), 32.88, 32.96 (2C, C-3, C-12), 47.04 (C-7), 50.57 (C-6), 53.93 (C-8), 55.52 (C-9).

^{15}N -NMR - spektroskopische Daten (2 M NaOD in CD_3OD ; 50 MHz): δ [ppm] = -347.7 (NH), -256.5 (N-NONO), -68.8 (NONO), 41.9 (NONO).

IR (KBr) [cm^{-1}] = 3423 $\nu(\text{NH})$, 2958, 2931, 2862 $\nu(\text{CH})$, 1390 (ν_{sy} (NONO), ν_{as} (NONO), δ (NONO)), 1151 $\nu(\text{NO})$, 969 $\nu_{\text{sy, in-plane}}$ (NONO).

Elementaranalyse: $C_{14}H_{32}N_4O_2$, Molmasse: 288.5 g/mol

ber.	C	58.28;	H	11.20;	N	19.42
gef.	C	58.41;	H	11.23;	N	18.87

UV (1.01 mM in Wasser/Methanol = 1:1/V:V; 0.1 M NaOH): $\lambda_{\max} (\lg \epsilon) = 249 \text{ nm} (3.86)$

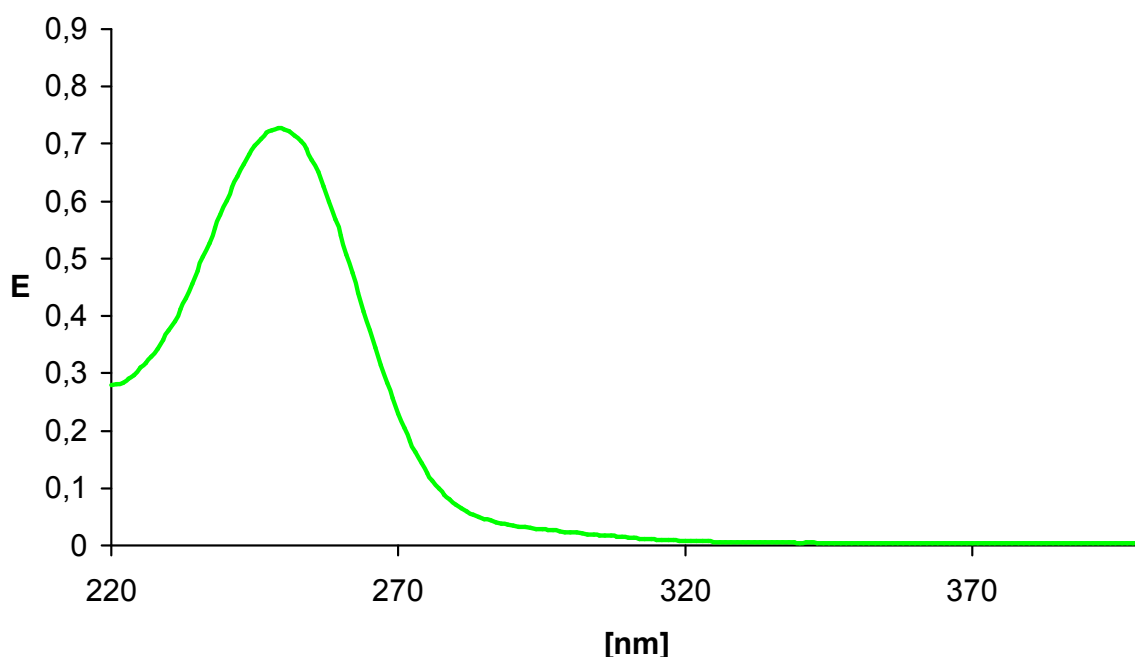


Abb. 67: UV-Spektrum von *N,N'*-Di-*n*-hexylethylendiamin-NONOat (**4b**, 1.01 mM in Wasser/ Methanol = 1:1 (V:V); 0.1 M NaOH): $\lambda_{\max} (\lg \epsilon) = 249 \text{ nm} (3.86)$.

Darstellung von *N,N'*-Di-*n*-octylethylendiamin-NONOat (4c**):** Eine Lösung aus 3.72 g (13.2 mmol) *N,N'*-Di-*n*-octylethylendiamin (**49c**) in 75 mL trockenem Acetonitril und 20 mL Tetrahydrofuran wurde in den Autoklav gefüllt, 10 Minuten mit Stickstoff gespült und mit Stickstoffmonoxid bei 6.0 bar beschickt. Ohne weitere Zufuhr von Stickstoffmonoxid wurde das Reaktionsgemisch insgesamt 46 Stunden bei Raumtemperatur gerührt. Bei Abbruch der Reaktion war der NO-Druck auf 3.4 bar gesunken. Der Autoklav wurde geöffnet, und das Reaktionsgemisch, das auch hier aus farblosem Feststoff und schwach gelber Lösung bestand, wurde in einen Stickstoffkolben überführt. Unter Eiskühlung und Schutzgas wurde der farblose Niederschlag zunächst über eine Umkehrfritte (DIII) von

der Lösung abgetrennt. Das Rohprodukt wurde mit 20 mL THF gewaschen und unter Vakuum (0.7 - 1.0 hPa) getrocknet.

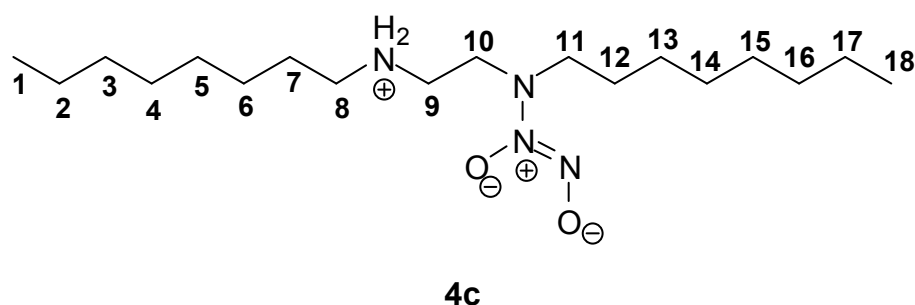
Ausbeute an *N,N'*-Di-*n*-octylethylendiamin-NONOat (**4c**): 2.17 g, 63.0 mmol (48%)

2. Ansatz: Die zweite Umsetzung erfolgte bei 7.0 bar ($7.0 \cdot 10^5$ Pa) Stickstoffmonoxid. Zu einem Lösungsmittelgemisch aus 20 mL trockenem Tetrahydrofuran und 70 mL trockenem Acetonitril wurden 3.15 g (0.011 mol) *N,N'*-Di-*n*-octylethylendiamin (**49c**) gegeben. Das Reaktionsgemisch wurde dann in den Hochdruck-Autoklaven überführt und nach Spülen mit Stickstoff mit 7.0 bar Stickstoffmonoxid beschickt. Das Reaktionsgemisch wurde danach wie im vorangegangenen Ansatz beschrieben insgesamt 24 Stunden bei Raumtemperatur ohne weitere Zufuhr von NO gerührt. Nach der Isolierung wurde der Feststoff der Reihe nach mit einer 0.1 M NaOH-Lösung, Wasser, Methanol und THF gewaschen. Auch hier wurde nach dem Trocknen unter Vakuum (0.7 - 1.0 hPa) Verbindung **4c** als farbloser Feststoff erhalten.

Ausbeute an *N,N'*-Di-*n*-octylethylendiamin-NONOat (**4c**): 2.44 g, 70.8 mmol (64 %)

Schmp.: 118-120 °C (Zers.)

^1H -NMR-, ^{13}C -NMR- und ^{15}N -NMR-spektroskopische Daten von *N,N'*-Di-*n*-octylethylendiamin-NONOat (**4c**):



^1H -NMR-Spektrum (2 M NaOD in CD_3OD , 500 MHz): δ [ppm] = 0.86 (t, $^3J=7.2$ Hz, 3H, H-1), 0.87 (t, $^3J=6.9$ Hz, 3H, H-18), 1.20-1.43 (m, 20H, H-2, H-3, H-4, H-5, H-6, H-12, H-14, H-15, H-16, H-17), 1.48 (quint., $^3J=6.8$ Hz, 2H, H-13), 2.48-2.57 (m, 4H, H-8, H-9), 2.90 (t, $^3J=6.9$ Hz, 2H, H-11), 3.03 (t, $^3J=6.0$ Hz, 2H, H-10).

^{13}C -NMR-Spektrum (2 M NaOD in CD_3OD , 125 MHz): δ [ppm] = 14.57 (2C, C-1, C-18), 23.72 (2C, C-2, C-17), 28.01, 28.19, 28.53 (6C, C-3, C-4, C-5, C-14, C-15, C-16), 3.44 (C-6), 30.70 (C-13), 33.03 (C-12), 47.07 (C-9), 50.53 (C-8), 53.92 (C-10), 55.43 (C-11).

^{15}N -NMR - spektroskopische Daten (2 M NaOD in CD_3OD ; 50 MHz): δ [ppm] = -347.6 (NH), -256.6 (N-NONO), -69.0 (NONO), 41.9 (NONO).

IR (KBr) [cm^{-1}] = 3427 $\nu(\text{NH})$, 2957, 2926, 2857 $\nu(\text{CH})$, 1388 (ν_{sy} (NONO), ν_{as} (NONO), δ (NONO)), 1152 $\nu(\text{NO})$, 945 $\nu_{\text{sy, in-plane}}$ (NONO).

Elementaranalyse: $\text{C}_{18}\text{H}_{40}\text{N}_4\text{O}_2$, Molmasse: 334.6 g/mol

ber.	C	62.74;	H	11.72;	N	16.26
gef.	C	62.80;	H	12.45;	N	16.05

UV (1.09 mM in Wasser/Methanol = 1:1/V:V; 0.1 M NaOH): λ_{max} ($\lg \epsilon$) = 250 nm (3.83)

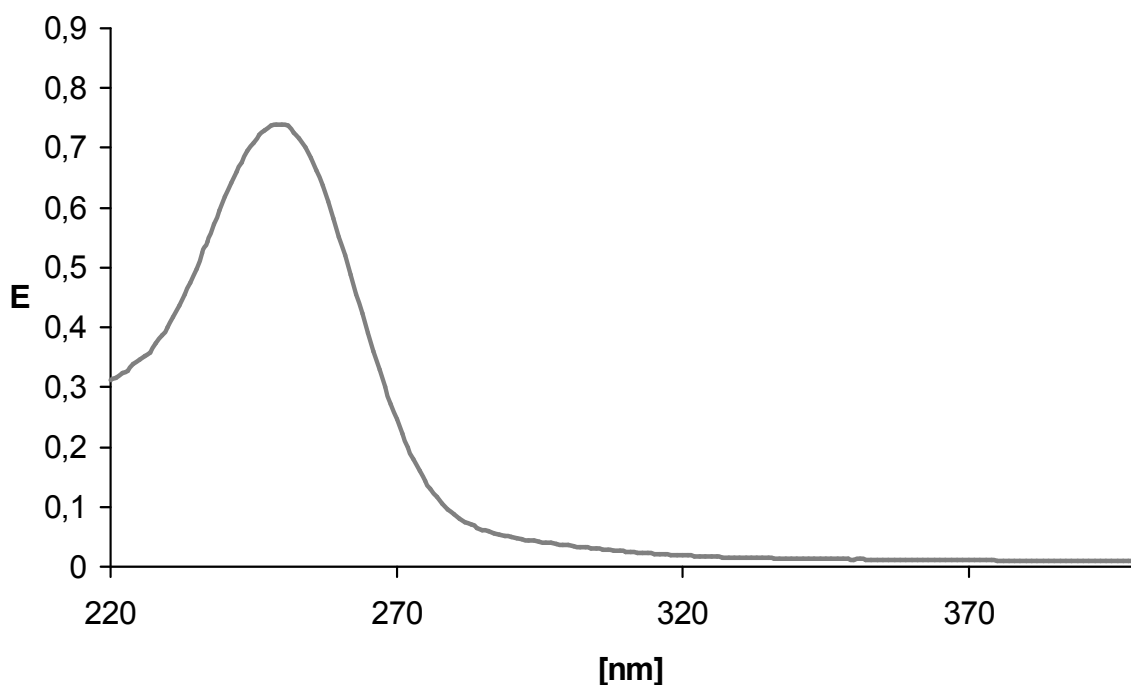


Abb. 68: UV-Spektrum von *N,N'*-Di-*n*-octylethylendiamin-NONOat (**4c**, 1.09 mM in Wasser/ Methanol = 1:1 (V:V); 0.1 M NaOH): λ_{max} . ($\lg \epsilon$) = 250 nm (3.83).

11 Spektroskopische Untersuchungen

Alle spektroskopischen Untersuchungen wurden mit möglichst sauerstofffreien Lösungsmitteln durchgeführt. Um dies zu realisieren, wurden alle Lösungen in spezielle mit Bodenfritten versehenen Gefäßen überführt und mindestens eine halbe Stunde mit Argon gespült.

11.1 ^1H -NMR-, ^{13}C -NMR- und ^{15}N -NMR-spektroskopische Untersuchungen der *N*-Diazeniumdiolate (NONOate)

Die ^1H -, ^{13}C - und ^{15}N -NMR-Spektren der NONOate **4a** – **4d** wurden allesamt in alkalischer D_2O - oder CD_3OD -Lösung aufgenommen, um eine Zersetzung während der Messungen zu vermeiden. Jeweils 100 mg des betreffenden NONOats wurden eingewogen und in 1 mL Lösungsmittel gelöst. Im Falle der Donatoren **4a** und **4d** wurden als Lösungsmittel je eine 2 M Lösung von NaOD in D_2O verwendet, während für die lipohileren Vertreter **4b** und **4c** Lösungen aus 2 M NaOD in CD_3OD zur Verfügung standen. Messungen für das Triazacyclononan-NONOat (**46**) wurden ebenfalls in alkalischer D_2O -Lösung durchgeführt. Hier wurden 30 mg des NONOats **46** eingewogen und in 1 mL einer 5.75 M NaOD-Lösung gelöst. Aufgrund der niedrigen Empfindlichkeit waren bei allen ^{15}N -NMR-spektroskopischen Untersuchungen lange Messzeiten von ca. 2.5 Tagen erforderlich. Alle Messungen erfolgten bei Raumtemperatur.

11.2 UV-spektroskopische Untersuchungen

Für die UV-spektroskopischen Untersuchungen der NONOate **4a** – **4d** wurden vier alkalische NONOat-Stammlösungen frisch zubereitet. Da nicht alle Donatoren in Wasser löslich waren, wurden neben einer 0.01 M und 0.1 M NaOH-Lösung für **4d** und **4a** auch ein Lösungsmittelgemisch aus Wasser und Methanol (1:1/V:V) für **4b** sowie reines Methanol für **4c** verwendet. Letztere waren ebenfalls alkalisch mit einer NaOH-Konzentration von 0.1 M. Die untere Tabelle gibt einen Überblick über die Art und Zusammensetzung der einzelnen Stammlösungen.

Tab. 31: Art und Zusammensetzung der NONOat-Stammlösungen von **4a** - **4d** für die UV-Messungen

	Art und Zusammensetzung des Lösungsmittels für die Stammlösungen	Einwaage an NONOat	Konzentration an NONOat
4d	0.01 M NaOH	14.9 mg in 100 mL	1.01 mM
4a	0.10 M NaOH	64.9 mg in 25 mL	11.17 mM
4b	0.10 M NaOH in MeOH/Wasser (1:1)	73.1 mg in 25 mL	10.13 mM
4c	0.10 M NaOH in MeOH	93.9 mg in 25 mL	10.90 mM

Die Aufnahme der Spektren erfolgten in 0.1 M NaOH-Lösung. Im Falle des Methyl-NONOats **4d** wurden 0.3 mL der Stammlösung mit 2.7 mL der NaOH-Lösung (0.1 M) versetzt, so dass die Konzentration an **4d** in der Küvette 0.101 mM betrug. In allen anderen Fällen wurden je 30 μ L der Stammlösung und 2970 μ L (2.970 mL) der NaOH-Lösung (0.1 M) miteinander vermischt, so dass die Konzentrationen in der Küvette bei 0.121 mM für **4a**, 0.101 mM für **4b** und 0.109 mM für **4c** lagen. Die Aufnahme der Spektren erfolgte augenblicklich nach dem Vermischen bei Raumtemperatur. Die Untersuchung des Triazacyclononan-NONOats **46** erfolgte in der gleichen Weise mit einer 0.131 mM Lösung von **46** in 0.01 M NaOH.

11.3 Kinetische Untersuchungen

11.3.1 Zerfall der hydrophilen und hydrophoben NONOate in Phosphatpufferlösung (pH 7.4)

Untersuchungen zum Zerfall von **4a** und **4d** wurden in reiner Phosphatpufferlösung (pH = 7.39 ± 0.03 für **4a** und pH = 7.37 ± 0.03 für **4d**) bei einer Temperatur von 22.0 ± 0.1 °C durchgeführt. Zur Herstellung der Puffersysteme wurden je eine 0.1 M Natrium-hydroxid - und eine 0.1 M Kaliumdihydrogenphosphatlösung hergestellt und miteinander vermischt (50 mL NaOH und 39.1 mL KH_2PO_4). Die pH-Werte wurden danach mithilfe eines pH-Meters überprüft und ggf. auf den gewünschten Wert eingestellt. Als NONOat-Stammlösungen dienten je eine 1.01 mM Lösung von **4d** in 0.01 M NaOH sowie eine 11.17 mM Lösung von **4a** in 0.1 M NaOH. Bevor die Messungen gestartet werden

konnten, wurden alle Proben ca. eine halbe Stunde im Thermostaten temperiert. Im Anschluß daran wurden 2.70 mL der Pufferlösung und 0.30 mL der Stammlösung von **4d** miteinander vermischt und die Messung gestartet. Im Falle des Butyl-NONOats **4a** wurde gleichermaßen vorgegangen, indem 2970 μL der Pufferlösung und 30 μL der Stammlösung miteinander vermischt wurden. Die Konzentration von **4a** in der Küvette betrug 0.101 mM, während die von **4d** bei 0.112 mM lag.

Untersuchungen zum Zerfall von **4b** und **4c** wurden in Gemischen aus Dioxan und Phosphatpufferlösung (1:4/V:V und 1:1/V:V; $\text{pH} = 7.35 \pm 0.03$ für **4b** und **4c**) ebenfalls bei einer Temperatur von 22.0 ± 0.1 °C durchgeführt. Als NONOat-Stammlösung wurden je eine 10.25 mM Lösung von **4b** in 0.1 M NaOH in Wasser/Methanol (1:1/V:V) sowie eine 10.75 mM Lösung von **4c** in 0.1 M NaOH in Methanol verwendet. 30 μL der Stamm- und 2970 μL der Pufferlösung wurden auch hier miteinander vermischt, so dass die Konzentration von **4b** in der Küvette 0.042 mM betrug, während die von **4c** bei 0.036 mM lag. Die Aufnahme der Spektren erfolgte augenblicklich nach dem Vermischen. Die nachfolgende Tabelle gibt eine Übersicht über die Art und Zusammensetzung der Stammlösungen.

Tab. 32: Art und Zusammensetzung der NONOat-Stammlösungen von **4a** - **4d** für den Zerfall in Phosphatpufferlösung ($\text{pH} 7.4$) bei 22.0 ± 0.1 °C

	Art und Zusammensetzung des Lösungsmittels für die Stammlösungen	Einwaage an NONOat	Konzentration an NONOat
4d	0.01 M NaOH	14.9 mg in 100 mL	1.01 mM
4a	0.10 M NaOH	64.6 mg in 25 mL	11.12 mM
4b	0.10 M NaOH in MeOH/Wasser (1:1)	147.8 mg in 50 mL	10.25 mM
4c	0.10 M NaOH in MeOH	185.3 mg in 50 mL	10.75 mM

11.3.2 Zerfall von *N,N'*-Dimethylethylendiamin- und *N,N'*-Di-*n*-butylethylendiamin-NONOat in Abhängigkeit vom pH-Wert

Untersuchungen zum Zerfall von **4d** wurden im pH-Bereich zwischen 6.74 und 8.02 durchgeführt, während für das Butyl-NONOat **4a** pH-Werte zwischen 5.10 und 8.02

gewählt wurden. Um den gesamten Bereich zu erfassen, standen verschiedene Essigsäure/Natriumacetat- und Phosphatpufferlösungen zur Verfügung: Jeweils zwei Stammlösungen aus Natriumdihydrogenphosphat (0.1 M) und Natriumhydroxid (0.1 M) wurden in bestimmten Verhältnissen miteinander gemischt, so dass mehrere Phosphatpuffer erhalten wurden. Der pH-Wert konnte so zwischen 5.8 und 8.0 variiert werden, wobei Messungen bei pH = 6.74, 7.03, 7.22, 7.37, 7.60, und 7.80 für **4d** sowie bei pH = 5.79, 6.02, 6.58, 7.00, 7.21 und 7.47 für **4a** erfolgten. Ausgehend von einer 0.1 M Essigsäure- und 0.2 M Natriumacetatlösung konnten alle kleineren pH-Werte ($\text{pH} < 5.8$) realisiert werden (Untersuchungen zum Zerfall von **4a** bei pH = 5.10 und 5.43). Als NONOat-Stammlösungen dienten je eine 1.01 mM Lösung von **4d** in 0.01 M NaOH sowie eine 11.38 mM Lösung von **4a** in 0.1 M NaOH. Zum Vermessen von **4a** wurden dann 2970 μL der Puffer- und 30 μL der Stammlösung miteinander vermischt, während beim Methyl-NONOat **4d** 2.70 mL Puffer- und 0.3 mL Stammlösung verwendet wurden. Die Aufnahme der Spektren erfolgte auch hier augenblicklich nach dem Vermischen. Alle Messungen erfolgten bei einer konstanten Temperatur von 22.0 ± 0.1 °C. Die nachfolgende Tabelle gibt eine Übersicht über die Art und Zusammensetzung der Stammlösungen.

Tab. 33: Art und Zusammensetzung der NONOat-Stammlösungen von **4a** und **4d** für den pH-abhängigen Zerfall bei 22.0 ± 0.1 °C

	Art und Zusammensetzung des Lösungsmittels für die Stammlösungen	Einwaage an NONOat	Konzentration an NONOat
4d	0.01 M NaOH	14.9 mg in 100 mL	1.01 mM
4a	0.10 M NaOH	66.1 mg in 25 mL	11.38 mM

11.3.3 Zerfall der hydrophoben NONOate in Phosphatpufferlösung (pH 7.4) in Gegenwart von Natriumdodecylsulfat (SDS)

Für sechs verschiedene Konzentrationen an Natriumdodecylsulfat (SDS) wurde der Zerfall von **4a** - **4d** in Phosphatpufferlösung bei 22.0 ± 0.1 °C untersucht. Zur Herstellung der Pufferlösung wurden zunächst ausreichende Mengen einer 0.1 M Natriumhydroxid- und einer 0.1 M Natriumdihydrogenphosphatlösung angesetzt und miteinander vermischt (500 mL NaOH und 391 mL NaH_2PO_4). Der pH-Wert konnte mithilfe eines pH-Meters

rasch überprüft und ggf. auf den gewünschten Wert eingestellt werden. Die einzelnen SDS-Puffersysteme wurden anschließend für jede Messung so zubereitet, dass jeweils eine bestimmte Menge an SDS in 50 mL desselben Puffers gelöst wurden. Diese Lösungen wurden dann nochmals eine halbe Stunde mit Argon gespült und der pH-Wert überprüft. Sechs verschiedene SDS-Puffersysteme wurden hergestellt, so dass die Messungen in 5, 10, 26, 51, 100 und 200 mM Lösungen von SDS in Phosphatpufferlösung ($\text{pH} = 7.38 \pm 0.03$ für **4a** - **4d**) erfolgten. Alle NONOat-Stammlösungen waren so zubereitet worden, dass zum Vermessen der Donatoren **4a** – **4c** jeweils 2970 μL der Puffer- und 30 μL der Stammlösung gebraucht wurden, während beim Methyl-NONOat **4d** 2.70 mL Puffer- und 0.3 mL Stammlösung vermischt wurden. Insgesamt standen vier verschiedene Stammlösungen zur Verfügung.

Tab. 34: Art und Zusammensetzung der NONOat-Stammlösungen von **4a** - **4d** für den Zerfall in Phosphatpufferlösung in Gegenwart von SDS ($\text{pH} 7.4$) bei 22.0 ± 0.1 °C

	Art und Zusammensetzung des Lösungsmittels für die Stammlösungen	Einwaage an NONOat	Konzentration an NONOat
4d	0.01 M NaOH	15.4 mg in 100 mL	1.04 mM
4a	0.10 M NaOH	64.9 mg in 25 mL	11.17 mM
4b	0.10 M NaOH in MeOH/Wasser (1:1)	147.8 mg in 50 mL	10.25 mM
4c	0.10 M NaOH in MeOH	185.3 mg in 50 mL	10.75 mM

Zusätzlich zu den Messungen bei 22.0 ± 0.1 °C wurde der Zerfall des Butyl-NONOats **4a** auch unter physiologischen Bedingungen (37.0 ± 0.1 °C) verfolgt. Ausgehend von einer 0.1 M Natriumdihydrogenphosphat- und 0.1 M Natriumhydroxidlösung wurde zunächst der Phosphatpuffer hergestellt (500 mL NaOH und 391 mL NaH_2PO_4). Die Zubereitung der SDS-Pufferlösungen erfolgte danach in der gleichen Weise, indem eine bestimmte Menge an SDS in 50 mL desselben Puffers gelöst wurden. Fünf verschiedene Konzentrationen wurden berücksichtigt, wobei Messungen in 5, 10, 26, 52 und 101 mM Lösung von SDS in Phosphatpufferlösung ($\text{pH} = 7.35 \pm 0.03$) erfolgten. Von der Verbindung **4a** wurden 66.2 mg eingewogen und in 25 mL einer 0.1 M NaOH gelöst. Jeweils 2970 μL der Pufferlösung und 30 μL der Stammlösung wurden gemischt und die

Messungen augenblicklich gestartet. Alle Stamm- und Pufferlösungen wurden zuvor ca. 0.5 – 1.0 Stunde im Thermostaten temperiert.

11.3.4 Fluoreszenzspektroskopische Bestimmung der kritischen Mizellbildungskonzentration cmc_{SDS} von Natriumdodecylsulfat in Phosphatpufferlösung (pH 7.4)

Zwei Bestimmungen wurden durchgeführt. Einmal wurde die kritische Mizellbildungskonzentration cmc_{SDS} in reinem Wasser ermittelt, während eine darauffolgende Bestimmung in Phosphatpufferlösung ($\text{pH} = 7.38 \pm 0.03$) erfolgte. Die Aufnahmen der Fluoreszenzspektren erfolgten in einer 1.0 cm Suprasilküvette bei Raumtemperatur. Die Anregungswellenlänge für die Sonde Pyren lag bei $\lambda_{\text{exc.}} = 336 \text{ nm}$, während zur Bestimmung der cmc_{SDS} jeweils die Intensitäten der Banden I_I bei $\lambda = 372 \text{ nm}$ und I_{III} bei $\lambda = 383 \text{ nm}$ betrachtet wurden. Zu diesem Zweck wurde für jede Konzentration an SDS das Emissionsspektrum zwischen 350 und 450 nm aufgezeichnet. Für die fluoreszenzspektroskopischen Untersuchungen wurden folgende Lösungen frisch zubereitet:

- Stammlösung von Pyren in Dimethylformamid (1.03 mM)
- Phosphatpufferlösung ($\text{pH} = 7.38 \pm 0.03$)
- Natriumdodecylsulfat-(SDS)-Stammlösung in Wasser (98.8 mM)
- Natriumdodecylsulfat-(SDS)-Stammlösung (99.2 mM)
in Phosphatpufferlösung ($\text{pH} = 7.38 \pm 0.03$)

Zunächst wurde frisch destilliertes Wasser in spezielle mit Bodenfritten versehenen Gefäßen überführt und ca. eine halbe Stunde mit Argon gespült. Parallel dazu wurden 10.3 mg Pyren in 50 mL Dimethylformamid, 2.849 g Natriumdodecylsulfat in 100 mL Wasser sowie 0.572 g SDS in 20 mL Phosphatpuffer gelöst. Ausgehend von einer 0.1 M Natriumdihydrogenphosphat- und 0.1 M Natriumhydroxidlösung wurde dann durch Vermischen beider Lösungen der Phosphatpuffer hergestellt (500 mL NaOH und 391 mL NaH_2PO_4).

Für jedes Spektrum wurden jeweils 15 μL der Pyren-Stammlösung entnommen und in die Messküvette überführt. Anschließend wurde das berechnete Volumen an SDS-Stammlösung zugegeben, und zuletzt die berechnete Menge an Wasser bzw.

Phosphatpufferlösung. Alle Volumina waren so bemessen worden, dass das Gesamtvolumen in der Küvette stets bei 3000 μL (3.0 mL) lag. Für vierzehn verschiedene Konzentrationen an SDS wurden die Emissionsspektren zwischen 350 und 450 nm aufgezeichnet. Messungen erfolgten dabei sowohl in Wasser als auch in Phosphatpufferlösung im Bereich zwischen 0 und 20 mM SDS. Die Konzentration an Pyren lag jeweils bei 50 μM .

12 Literaturverzeichnis

- [1] S. Moncada, R. M. J. Palmer, E. A. Higgs, *Pharmacol. Rev.* **1991**, 43, 109-142.
- [2] J. S. Stamler, M. Feelisch in *Methods in Nitric Oxide Research* (Hrsg.: J. S. Stamler, M. Feelisch), Wiley, Chichester **1996**, 71-115.
- [3] S. Moncada, M. W. Radomski, R. M. J. Palmer, *Biochem. Pharmacol.* **1988**, 37, 2495-2501.
- [4] R. F. Furchgott, J. V. Zawadzki, *Nature* **1980**, 288, 373-376.
- [5] M. Fontecave, J.-L. Pierre, *Bull. Soc. Chim. Fr.* **1994**, 131, 620-631.
- [6] J. S. Stamler, M. Feelisch in *Methods in Nitric Oxide Research* (Hrsg.: J. S. Stamler, M. Feelisch), Wiley, Chichester **1996**, 20-27.
- [7] A. Daiber, V. Ullrich, *Chemie in unserer Zeit* **2002**, 6, 366-375.
- [8] S. H. Snyder, D. S. Bredt, *Spektrum der Wissenschaften* **1992**, 7, 72-80.
- [9] U. Förstermann, *Biologie in unserer Zeit* **1994**, 24, 62-69.
- [10] R. Kilbourn, T. R. Billar in *Methods in Nitric Oxide Research* (Hrsg.: J. S. Stamler, M. Feelisch), Wiley, Chichester **1996**, 619-630.
- [11] St. M. Marxer, A. R. Rothrock, B. J. Nablo, M. E. Robbins, M. H. Schoenfisch *Chem. Mater.* **2003**, 15, 4193-4199.
- [12] M. M. Batchelor, S. L. Reoma, P. S. Fleiser, V. K. Nuthakki, R. E. Callahan, C. J. Stanley, J. K. Politis, J. Elmore, S. I. Merz, M. E. Meyerhoff, *J. Med. Chem.* **2003**, 46, 4193-4199.
- [13] H.-J. Galla, *Angew. Chem.* **1993**, 105, 399-402.
- [14] M. A. Marletta, *J. Biol. Chem.* **1993**, 268, 12231-12234.
- [15] M. A. Marletta, *Cell* **1994**, 78, 915-930.
- [16] R. G. Knowles, S. Moncada, *Biochem. J.* **1994**, 298, 249-258.
- [17] H. Greim, E. Deml, *Toxikologie*, VCH-Verlag Weinheim **1990**.
- [18] P. G. Wang, M. Xian, X. Tang, X. Wu, Z. Wen, T. Cai, A. J. Janczuk, *Chem. Rev.* **2002**, 102, 1091-1134.
- [19] J. A. Hrabie, L. K. Keefer, *Chem. Rev.* **2002**, 102, 1135-1154.
- [20] J. A. Bauer, T. Nolan, H.-L. Fung, *J. Pharmacol. Exp. Ther.* **1997**, 280, 326-331.
- [21] G. R. J. Thatcher, H. Weldon, *Chem. Soc. Rev.* **1998**, 27, 331-337.
- [22] P. C. Ford, I. M. Lorkovic, *Chem. Rev.* **2002**, 102, 993-1017.
- [23] A. Schrammel, S. Pfeiffer, K. Schmidt, D. Koesling, B. Mayer, *Mol. Pharmacol.* **1998**, 54, 207-212.
- [24] S. Fukuyama, Y. Hirasawa, Y. Kato, M. Nishio, M. Ohno, S. Nishino, K. Maeda,

- M. Kato, Y. Kita, *J. Pharmacol. Exp. Ther.* **1997**, 282, 236-242.
- [25] D. L. H. Williams, *Acc. Chem. Res.* **1999**, 32, 869-876.
- [26] D. R. Noble, D. L. H. Williams, *Nitric Oxide* **2000**, 4, 392-398.
- [27] K. Szacilowski, Z. Stasicka, *Progr. React. Kin. Mech.* **2000**, 26, 1-58.
- [28] K. Wang, W. Zhang, M. Xian, Y.-C. Hou, X.-C. Chen, J.-P. Cheng, P. G. Wang, *Curr. Med. Chem.* **2000**, 7, 821-831.
- [29] H. Al-Sa'Doni, A. Ferro, *Clin. Sci.* **2000**, 98, 507-520.
- [30] R. S. Drago, F. E. Paulik, *J. Am. Chem. Soc.* **1960**, 82, 96.
- [31] R. S. Drago, B. R. Karstetter, *J. Am. Chem. Soc.* **1961**, 83, 1819.
- [32] C. M. Maragos, D. Morley, D. A. Wink, T. M. Dunams, J. E. Saavedra, A. Hoffman, A. A. Bove, L. Isaac, J. A. Hrabie, L. K. Keefer, *J. Med. Chem.* **1991**, 34, 3242-3247.
- [33] J. A. Hrabie, J. R. Klose, D. A. Wink, L. K. Keefer, *J. Org. Chem.* **1993**, 58, 1472-1476.
- [34] D. L. Mooradian, T. C. Hutsell, L. K. Keefer, *J. Cardiovasc. Pharmacol.* **1995**, 25, 674-678.
- [35] J. E. Saavedra, M. N. Booth, J. A. Hrabie, K. M. Davies, L. K. Keefer, *J. Org. Chem.* **1999**, 64, 5124-5130.
- [36] J. E. Saavedra, T. R. Billiar, D. L. Williams, Y.-M. Kim, S. C. Watkins, L. K. Keefer, *J. Med. Chem.* **1997**, 40, 1947-1954.
- [37] P. Karlson, D. Doenecke, J. Koolman, *Biochemie für Mediziner und Naturwissenschaftler*, 14. Neubearb. Auflage, Georg Thieme Verlag Stuttgart **1994**.
- [38] G. Karigiannis, D. Papaioannou, *Eur. J. Org. Chem.* **2000**, 1841-1863.
- [39] V. Kuksa, R. Buchan, P. Kong Thoo Lin, *Synthesis* **2000**, 9, 1189-1207.
- [40] J. S. Bradshaw, K. E. Krakowiak, R. M. Izatt, *Tetrahedron* **1992**, 48, 4475-4515.
- [41] K. Peter C. Vollhardt, N. E. Schore, *Organische Chemie*, 2. Aufl., VCH-Verlag Weinheim **1995**.
- [42] A. Streitwieser, C. H. Heathcock, *Organische Chemie*, 2. Aufl., VCH-Verlag Weinheim **1994**.
- [43] F. A. Carey, R. J. Sundberg, *Organische Chemie*, VCH-Verlag Weinheim **1995**.
- [44] Heinz G. O. Becker *et al.*, *Organikum*, 20., bearb. und erw. Aufl., Johann Ambrosius Barth Verlag Heidelberg, Leipzig **1996**.
- [45] D. Nelson, M. Cox, *Lehninger Biochemie*, 3. vollst. überarb. und. erw. Aufl., Springer-Verlag Berlin, Heidelberg **2001**.
- [46] P. A. Craven, L. J. Ignarro in *Methods in Nitric Oxide Research* (Hrsg.: J. S. Stamler, M. Feelisch), Wiley, Chichester **1996**, 209-220.
- [47] S. Pfeiffer, B. Mayer B. Hemmens, *Angew. Chem.* **1999**, 111, 1824-1844.

- [48] L. J. Ignarro, *Angew. Chem.* **1999**, 111, 2002-2013.
- [49] U. Zabel, C. Kleinschnitz, P. Oh, P. Nedvetzky, A. Smolenski, H. Müller, P. Kronich, P. Kugler, U. Walter, J. E. Schnitzer, H. H. H. W. Schmidt, *Nature Cell Biology* **2002**, 4, 307-311.
- [50] H. Kleinig, *Zellbiologie* (begr. von H. Kleinig und P. Sitte), 4. Neubearb. Aufl., Gustav Fischer Verlag Stuttgart, Jena, Lübeck, Ulm **1999**.
- [51] L. Stryer, *Biochemie*, 1. korr. Nachdruck der 4. Aufl., Spektrum Akademischer Verlag Heidelberg, Berlin, Oxford **1999**.
- [52] K. Jungermann, H. Möhler, *Biochemie - Lehrbuch für Studierende der Medizin, Biologie und Pharmazie*, Springer-Verlag Berlin **1980**.
- [53] D. Voet, J. G. Voet, *Biochemie*, 1. korr. Nachdruck der 1. Aufl., VCH-Verlag Weinheim **1992**.
- [54] A. L. Lehninger, D. L. Nelson, M. C. Cox, *Prinzipien der Biochemie*, 2. Aufl., Spektrum Akademischer Verlag Heidelberg **1994**.
- [55] D. Voet, J. G. Voet, Ch. W. Pratt, *Lehrbuch der Biochemie*, Wiley-VCH Verlag Weinheim **2002**.
- [56] W. Hoppe, W. Lohmann, H. Markl, H. Ziegler, *Biophysik*, korr. Nachdruck der 1. Aufl., Springer-Verlag Berlin, Heidelberg, New-York **1978**.
- [57] H.-D. Dörfler, *Grenzflächen- und Kolloidchemie*, VCH-Verlag Weinheim **1994**.
- [58] W. Hanke, R. Hanke, *Methoden der Membranphysiologie*, Spektrum Akademischer Verlag Heidelberg, Berlin, Oxford **1997**.
- [59] R. Glaser, *Biophysik*, 4., völlig überarb. Aufl., Gustav Fischer Verlag Jena, Stuttgart **1996**.
- [60] I. Simmons, R. Elizabeth, *Biophysical Chemistry – Molecules to Membranes*, Springer-Verlag New-York **1990**.
- [61] G. Wedler, *Lehrbuch der physikalischen Chemie*, 3. durchges. Auflage, VCH-Verlag Weinheim **1987**.
- [62] M. M. Baizer, J. D. Anderson, *J. Org.Chem.* **1965**, 30, 1357-1360.
- [63] D. Basavaiah, V. V. L. Gowriswari, T. K. Bharathi, *Tetrahedron Letters* **1987**, 28, 4591-4592.
- [64] M. Hesse, H. Meier, B. Zeeh, *Spektroskopische Methoden in der Organischen Chemie*, 5., überarb. Auflage, Georg Thieme Verlag Stuttgart **1995**.
- [65] G. Socrates, *Infrared Characteristic Group Frequencies*, 2. Edition, John Wiley & Sons **1994**.
- [66] M. Freifelder, *J. Am. Chem. Soc.* **1960**, 82, 2386-2389.

- [67] E. Buhleier, W. Wehner, F. Vögtle, *Synthesis* **1978**, 155-158.
- [68] R. Moors, F. Vögtle, *Chem. Ber.* **1993**, 126, 2133-2135.
- [69] G. Anderegg, P. Bläuenstein, *Helv. Chim. Acta* **1982**, 65, 162-198.
- [70] T. Satoh, Sh. Suzuki, Y. Suzuki, Y. Miyaji, Z. Imai, *Tetrahedron Letters* **1969**, 10, 4555-4558.
- [71] St. W. Heinzman, B. Ganem, *J. Am. Chem. Soc.* **1982**, 104, 6801-6802.
- [72] J. S. Bradshaw, K. E. Krakowiak, R. M. Izatt, *Aza-Crown Macrocycles*, John Wiley & Sons New-York **1993**.
- [73] K. Hata, M.-Ki Doh, K. Kashiwabara, J. Fujita, *Bull. Chem. Soc. Jpn.* **1981**, 54, 190-195.
- [74] B. K. Wagnon, S. C. Jackels, *Inorg. Chem.* **1989**, 28, 1923-1927.
- [75] R. S. Drago, B. R. Karstetter, *J. Chem. Soc. Perkin Trans 1* **1975**, 1302-1305.
- [76] J. S. Davies, C. H. Hassall, K. H. Hopkins, *J. Chem. Soc. Perkin Trans. 1* **1973**, 2614-2618.
- [77] L. Boksányi, O. Liardon, E. sz. Kováts, *Helv. Chim. Acta* **1976**, 59, 717-727.
- [78] J. E. Richman, T. J. Atkins, *J. Am. Chem. Soc.* **1974**, 96, 2268-2270.
- [79] S. Stötzel, *Kleines Liganden- und Komplexkochbuch*, Lehrstuhl für Anorganische Chemie der Ruhr-Universität Bochum **1993**.
- [80] K. Wieghardt, W. Schmidt, B. Nuber, J. Weiss, *Chem. Ber.* **1978**, 112, 2220-2230.
- [81] W. R. Boon, *J. Chem. Soc.* **1947**, 307-318.
- [82] A. J. Bruno, S. Chabereek, A. E. Martell, *J. Am. Chem. Soc.* **1956**, 78, 2723-2728.
- [83] G. N. Vyas, S. G. Dhopate, *J. Sci. Ind. Res.* **1959**, 6-10.
- [84] E. M. Wilson, *Tetrahedron* **1965**, 21, 2561-2571.
- [85] L. K. Keefer, J. L. Flippen-Anderson, C. George, A. P. Shanklin, T. M. Dunams, D. Christodoulou, J. E. Saavedra, E. S. Sagan, D. S. Bohle, *Nitric Oxide: Biology and Chemistry* **2001**, 5, 377-394.
- [86] K. M. Davies, D. A. Wink, J. E. Saavedra, L. K. Keefer, *J. Am. Chem. Soc.* **2001**, 123, 5473-5481.
- [87] H.-D. Dörfler, *Grenzflächen und kolloid-disperse Systeme*, Springer-Verlag Berlin **2002**.
- [88] P. W. Atkins, *Physikalische Chemie*, 2., korr. Nachdr. der 1. Aufl., VCH-Verlag Weinheim **1990**.
- [89] H. Hoffmann, W. Ulbricht in *Die Tenside*, (Hrsg.: K. Kosswig und H. Stache), Carl Hanser Verlag München **1993**, 1-99.
- [90] P. R. Majhi, A. Blume, *Langmuir* **2001**, 17, 3844-3851.

- [91] A. Chatterjee, S. P. Moulik, S. K. Sanyal, B. K. Mishra, P. M. Puri, *J. Phys. Chem. B* **2001**, 105, 12823-12831.
- [92] A. Tan, A. Ziegler, B. Steinbauer, J. Seelig, *Biophys. J.* **2002**, 83, 1547-1556.
- [93] M. J. Rosen, *Surfactants and Interfacial Phenomena*, 3. Edition, John Wiley & Sons New Jersey **2004**.
- [94] A. Malliaris, J. Le Moigne, J. Sturm, R. Zana, *J. Phys. Chem.* **1985**, 89, 2709-2713.
- [95] K. Kalyanasundaram, J. K. Thomas, *J. Am. Chem. Soc.* **1977**, 99, 2039-2044.
- [96] N. J. Turro, B. H. Baretz, P.-Lin Kuo, *Macromolecules* **1984**, 17, 1321-1324.
- [97] J. Aguiar, P. Carpena, J. A. Molina-Bolivar, C. Carnero Ruiz, *J. Colloid. Interface. Sci.* **2003**, 258, 116-122.
- [98] F. M. Menger, C. E. Portnoy, *J. Am. Chem. Soc.* **1967**, 89, 4689-4703.
- [99] N. J. Buurma, A. M. Herranz, J. B. F. N. Engberts, *J. Chem. Soc. Perkin Trans. 2* **1999**, 113-119.
- [100] S. E. Price, D. Jappar, P. Lorenzo, J. E. Saavedra, J. A. Hrabie, K. M. Davies, *Langmuir* **2003**, 19, 2096-2102.
- [101] E. Fanghänel, W. Ortmann, *J. prakt. Chem.* **1989**, 331 (5), 721-725.

LEBENS LAUF

PERSÖNLICHE DATEN

Name: Andreas Mohr
Geburtsdatum/ -ort: 07.05.1971/ Gelsenkirchen
Staatsangehörigkeit: deutsch
Familienstand: verheiratet

AUSBILDUNG

08/1978 – 06/1982	Viktoria-Grundschule in Essen
08/1982 – 06/1991	Besuch des städt. Gymnasiums Essen Nord-Ost Abschluss: Allgemeine Hochschulreife
07/1991- 06/1992	Ableistung des Wehrdienstes in Goslar und Nienburg an der Weser
10/1992 – 04/2000	Studium der Chemie DI (Chemie-Ingenieurwesen) und DII (Chemie) an der Universität GH Essen
10/1995	Diplom-Vorprüfung (DI)
10/1996	Diplom-Vorprüfung (DII)
06/1999	Diplom-Hauptprüfung (DII) Note: Sehr Gut
07/1999 – 02/2000	Diplomarbeit im Fach Organische Chemie unter Anleitung von Prof. Dr. R. Sustmann Thema: Darstellung und Charakterisierung von konformativ stabilisierten NONOaten zur selektiven Bildung von Stickstoffmonoxid Note: Sehr Gut
01/2000	Diplom-Hauptprüfung (DI) Note: Gut
06/2000	Beginn der Promotion zum Dr. rer. nat. Thema: <i>N</i> -Diazeniumdiolate (NONOate) als Stickstoff- monoxid (NO)-Donatoren Synthese und Charakterisierung von aliphatischen Poly- aminen als Vorstufen für hydrophile NONOate Darstellung und Charakterisierung von hydrophoben NONOaten auf der Basis von alkylierten <i>N,N'</i> -Diaminen